

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

**EFFET D'UNE DIÈTE ENRICHIÉ EN CHOLESTÉROL SUR LE
MÉTABOLISME DU GLUCOSE CHEZ LES LAPINES GESTANTES
ET SES REJETONS**

**MÉMOIRE
PRÉSENTÉE
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE**

**PAR
OLHA KEVORKOVA**

OCTOBRE 2006

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 -Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

À MES ENFANTS

ALEXANDRE ET PAUL

REMERCIEMENTS

À ma directrice de recherche, Julie Lafond PhD, professeure à l'Université du Québec à Montréal, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Son support et ses conseils ont permis de mener à bien cette recherche. Qu'elle trouve dans ce témoignage mes plus sincères remerciements.

À Mme Lucie Simoneau MSc, assistante de recherche au laboratoire de la physiologie materno-fœtale de l'UQAM, pour son amitié, son aide, sa patience, ses nombreux conseils tout au long de ce travail, ainsi que la lecture et les corrections apportées à ce mémoire.

À tou(te)s les étudiant(e)s et postdocs, du laboratoire de physiologie materno-fœtale de l'Université du Québec à Montréal pour leur soutien tout au long de ma maîtrise.

À mes parents, famille et ami(e)s pour leur support durant toutes les années de mes études et qui sans eux l'aboutissement de cette recherche n'aurait pu avoir lieu.

À Dima, mon grand amour, sans ton soutien la réalisation de cette recherche aurait été impossible. Merci du fond de mon cœur.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xiii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I	
ÉTAT DES CONNAISSANCES.....	3
1.1 Métabolisme du cholestérol lors de la grossesse.....	3
1.1.1 Le cholestérol.....	3
1.1.2 Le cholestérol pendant la gestation.....	4
1.1.3 Effet d'une diète enrichie en cholestérol sur la gestation.....	5
1.2 Gestation et placentation chez la lapine.....	8
1.3 Caractéristiques du métabolisme du glucose et de l'insuline.....	9
1.3.1 Glucose.....	9
1.3.2 Insuline.....	10
1.3.3 Métabolisme du glucose maternel lors de la grossesse.....	12
1.3.4 Métabolisme de l'insuline lors de la grossesse.....	13
1.4 Croissance prénatale.....	14
1.4.1 Croissance prénatale et facteurs maternels.....	14
1.4.2 Croissance prénatale et facteurs embryonnaires.....	14
1.4.3 Croissance prénatale et facteurs fœtaux.....	15
1.4.4 Croissance prénatale et facteurs placentaires.....	16
1.4.4.1 Métabolisme placentaire.....	16
1.4.4.2 Transfert placentaire.....	18
1.5 Transport du glucose.....	20
1.6 Transporteurs du glucose.....	21
1.6.1 Structure et nomenclature.....	21
1.6.2 Mécanisme d'action.....	23

1.6.3	Distribution tissulaire.....	24
1.7	Particularités des transporteurs du glucose.....	26
1.7.1	GLUT1.....	26
1.7.1.1.	GLUT1 et le diabète.....	27
1.7.1.2.	GLUT1 et la restriction de la croissance intrauterine (RCIU).....	28
1.7.2	GLUT2.....	29
1.7.3	GLUT3.....	29
1.7.4	GLUT4.....	30
1.7.5	GLUT5.....	31
1.7.6	GLUT6.....	31
1.7.7	GLUT7.....	31
1.7.8	GLUT8.....	31
1.7.9	GLUT9 et GLUT9ΔN.....	32
1.7.10	GLUT10.....	32
1.7.11	GLUT11.....	33
1.7.12	GLUT12.....	33
1.7.13	SGLT.....	33
1.8	Croissance fœtale pathologique.....	34
1.8.1	RCIU.....	35
1.8.2	Anomalies placentaires et RCIU.....	37
1.8.2.1.	Anomalies placentaires morphologiques.....	38
1.8.2.2.	Le métabolisme placentaire.....	38
1.8.2.3.	La production d'hormones.....	39
1.8.2.4.	Anomalies fonctionnelles.....	39

CHAPITRE II

2.1	Avant-propos.....	40
2.2	Article.....	41
	Abstract.....	42
	Introduction.....	43
	Materials and methods.....	45
	Results.....	50
	Discussion.....	52
	References.....	58
	Figure legend.....	64

CHAPITRE III

Conclusion générale.....76

RÉFÉRENCES.....78

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Structure d'une lipoprotéine.....	4
Figure 2. Circulation dans le placenta de lapin.....	8
Figure 3. Glycolyse.....	9
Figure 4. Métabolisme du piruvate.....	10
Figure 5. Mécanismes d'un transfert transmembranaire.....	19
Figure 6. Structure moléculaire d'un GLUT.....	22
Figure 7. Dendrogramme des GLUTs humaine.....	23

ARTICLE

Figure 1.	66
The glucose concentration (mg/dl) observed in (A) the serum of dams before mating (day 0 for control group (n=6)) and before the administration of the diet (day -7 for ECD group (n=7)) and at term, day 30, (B) the serum of dams at term and offspring from both control (n=16) and ECD group (n=18). Experiment from one serum was performed in duplicate and averaged. The value represents the mean±SEM. *p<0.05, control offspring vs. hypercholesterolemic offspring. **p<0.001, hypercholesterolemic dams vs. hypercholesterolemic offspring.	
Figure 2.	67
Insulin level (mUI/L) observed in (A) serum of dams before mating (day 0 for control group (n=7)) and before administration of diet (day -7 for ECD group (n=7)) and at term (day 30 for dams of both groups (control, n=9 and ECD, n=11) and (B) in serum of dams at term and offspring (control, n=20 and ECD, n=29). Experiment from one serum was performed in duplicate and averaged. The values represent the mean±SEM. *p<0.05, compared to day 0 or day -7 for each group respectively.	

Figure 3. 68

Representative mRNA expression of GLUT1, GLUT3 and GLUT4 in control rabbit placenta (A). Quantitative mRNA expression of GLUT1, GLUT3 and GLUT4 by real-time RT-PCR in rabbit placentas (vs. HPRT-1) of both control (GLUT1, n=5, GLUT3 and GLUT4, n=8) and ECD (GLUT1, n=7, GLUT3 and GLUT4, n=9) (B). Values are given as mean \pm SEM.

Figure 4. 69

Representative Western blot showing the content of placental GLUT1 and GAPDH (A) using total protein extract in control (n=4, line 1-4) and hypercholesterolemic (n=5, line 5-9) group of rabbit. 20 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT1 total protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM.

Figure 5. 70

Representative Western blot showing the content of placental GLUT4 and GAPDH (A) using total protein extract in control (n=4, line 1-4) and hypercholesterolemic (n=5, line 5-9) group of rabbit. 40 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT4 total protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM.

Figure 6. 71

Representative Western blot showing the content of placental SGLT-1 and GAPDH (A) using total protein extract in control (n=4, line 1-4) and hypercholesterolemic (n=4, line 5-8) group of rabbit. 40 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of SGLT-1 total protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM. **p<0.001.

Figure 7. 72

Representative Western blot showing the content of placental GLUT1 and GAPDH (A) using cytosolic fraction in control (n=4, line 1-4) and hypercholesterolemic (n=5, line 5-9) group of rabbit. 10 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT1 cytosolic protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM. *p<0.0005.

Figure 8. 73

Representative Western blot showing the content of placental GLUT1 and GAPDH (A) using plasma membrane fraction in control (n=3, line 1-3) and hypercholesterolemic (n=4, line 4-7) group of rabbit. 20 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT1 plasma membrane protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM. *p<0.005.

Figure 9. 74

Representative Western blot showing the content of placental GLUT4 and GAPDH (A) using cytosolic fraction in control (n=4, line 1-4) and hypercholesterolemic (n=5, line 5-9) group of rabbit. 20 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT4 cytosolic protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM.

Figure 10. 75

Representative Western blot showing the content of placental GLUT4 and GAPDH (A) using plasma membrane fraction in control (n=4) and hypercholesterolemic (n=4) group of rabbit. 30 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT4 plasma membrane protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (B). Values are given as mean \pm SEM.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Régulation hormonale: Un système hormonal complexe régule la glycémie.....	11
Tableau 2. Les GLUTs : distribution tissulaire et fonction biologique.....	25

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACAT: acyl coenzyme A: cholestérol-o-acyl transférase

ACTH: hormone adrénocorticotrope

ADNc: acide désoxyribonucléique complémentaire

AGL: acide gras libre

AMP: adénosine monophosphate

ARNm: acide ribonucléique messenger

ATP: adénosine triphosphate

BBM: membranes de bordure en brosse

BPM: membrane basale

CT: cholestérol total

DEC: diète enrichie en cholestérol

EGF: facteur epidermal de croissance

FBP : « folate binding protein »

GAPDH: « glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase »

GH: hormone de croissance

GLUT: transporteur facilité du glucose

hPL: lactogène placentaire

hCS: hormone chorionique somatomammotrophique

HDL: lipoprotéines de haute densité

HMG-CoA: 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A

IGF: « insulin like growth factors »

IUGR: « intrauterine growth restriction »

LDL: lipoprotéines de faible densité

NAD : nicotinamide adénine dinucleotide

pGH: hormone de croissance placentaire

PvO₂ : pression partielle d'oxygène

RCIU: restriction de la croissance intrauterine

RT-PCR: « reverse transcriptase polymerase chain reaction »

SGLT: « sodium dependent glucose transporter »

STZ: streptozotocine

STH: hormone somatotrope

TG: triglycéride

TGF: « transforming growth factor »

TNF: « tumor necrosis factor »

RÉSUMÉ

L'administration d'une diète enrichie à 0,2% en cholestérol (DEC) cause une hypercholestérolémie maternelle et fœtale, et entraîne une diminution de 15,5% du poids des rejets à la naissance chez les lapines. Cependant, les mécanismes qui engendrent la diminution du poids des rejets sont encore inconnus. Le glucose joue un rôle primordial dans le développement fœtal. Une diminution de l'apport en glucose et une hypoglycémie fœtale sont les mécanismes pathophysiologiques d'une restriction de la croissance intrautérine (RCIU). Le glucose traverse le placenta en utilisant des transporteurs spécifiques, soit les SGLT (dépendant du Na^+) et les GLUTs (transport facilité). Cependant, la régulation des GLUTs nécessite leur translocation du pool intracellulaire vers la membrane plasmique et ce phénomène peut grandement être influencé par l'environnement lipidique de la membrane. L'objectif de cette étude est donc d'étudier l'impact d'une DEC durant la gestation chez la lapine sur le métabolisme du glucose, l'expression génétique et protéique des SGLT et GLUTs et le routage des GLUTs dans le placenta. Pour effectuer cette étude, deux groupes de lapines gestantes et leurs rejets ont été utilisés: un groupe de femelles a été nourri avec une diète standard pour lapin et l'autre avec une DEC. Les niveaux sériques de glucose et d'insuline ont été évalués. La quantification relative de GLUTs (ARNm) dans le placenta a été faite par « reverse transcriptase polymerase chain reaction » (RT-PCR) en temps réel. La quantification des niveaux d'expression protéique de SGLT1 et de GLUTs placentaires a été réalisée par immunobuvardage de type Western. Nos résultats démontrent que la concentration du glucose chez les rejets hypercholestérolémiques est inférieure à celle de leur mère, ainsi qu'à celle des rejets contrôles. Une diminution du niveau d'insuline maternelle à la fin de la gestation a également été observée dans les deux groupes des lapines. Cependant, aucune différence dans l'insulinémie fœtale n'a été retrouvée. L'expression des GLUT1, GLUT3 et GLUT4 (ARNm) placentaires n'a pas été modifiée par la DEC. En ce qui a trait à l'expression protéique des GLUTs, la DEC ne semble pas influencer leur niveau dans des extraits de protéines totales placentaires. Cependant l'expression de la SGLT1, elle, est fortement diminuée (4 fois). Par contre, le fractionnement cellulaire a permis de démontrer une diminution de l'expression de GLUT1 dans la membrane plasmique des placentas de lapines hypercholestérolémiques, avec une augmentation concomitante de l'expression de GLUT1 dans la fraction cytosolique. Cependant, aucune différence dans l'expression protéique de GLUT4 dans ces 2 fractions n'a été constatée dans le placenta de deux groupes de lapines. En conclusion, l'hypercholestérolémie maternelle: 1) entraîne une hypoglycémie fœtale, 2) n'influence pas le niveau de l'insuline maternelle et fœtale, 3) n'a pas d'effet sur l'expression génétique de GLUT1, GLUT3 et GLUT4 placentaires, 4) diminue l'expression de SGLT1 placentaire dans l'extrait de protéines totales, et 5) influence uniquement le routage des GLUT1 vers la membrane plasmique. L'hypoglycémie fœtale pourrait, donc, être engendrée par la diminution de la mobilisation de GLUT1 placentaire dans la membrane plasmique. Le faible poids à la naissance des rejets hypercholestérolémiques pourrait s'expliquer par l'hypoglycémie fœtale.

Mots clés : hypercholestérolémie, RCIU, transporteur du glucose, placenta, lapin.

INTRODUCTION

Au cours de la gestation, le développement fœtal dépend d'un apport continu de nutriments provenant de la circulation maternelle (Battaglia et Meschia 1986, Morris et Boyd 1988). Les nutriments maternels servent à assurer le métabolisme énergétique, la croissance et les réserves du placenta et du fœtus. Parmi ceux-ci, le glucose joue un rôle primordial dans le développement intra-utérin du fœtus (Battaglia et Meschia 1978; Takata et Hirano 1997). En effet, il représente pour le fœtus une source d'énergie et un facteur de croissance et couvre en fin de grossesse 80 % des besoins oxydatifs fœto-placentaires (Aldoretta et Hay 1995).

Le placenta constitue une barrière sélective entre le sang maternel et le sang fœtal. Le placenta cumule plusieurs fonctions telle que le transport des particules nutritives, le métabolisme et la production des hormones et des cytokines (Knipp *et al* 1999). Les nutriments traversent le placenta grâce aux différents transporteurs situés dans ses parties basale et apicale du syncytiotrophoblaste. Spécifiquement, la diffusion transplacentaire du glucose est facilitée par des protéines impliquées à la fois dans le captage du glucose maternel et son transfert.

La croissance prénatale est un processus complexe de par son déroulement et son intensité. Lors de la gestation, de nombreuses modifications hormonales et métaboliques sont observées pour maintenir le développement de la grossesse et la croissance fœtale (Butte 2000; Di Cianni *et al.* 2003). Des perturbations de ces métabolismes, dans certaines conditions spécifiques, peuvent provoquer des pathologies de la gestation telles que la restriction de la croissance intrautérine (RCIU) qui représente un problème de santé publique. Ce phénomène concerne environ 5% de l'accouchement à terme et encore aujourd'hui l'étiologie et les mécanismes de la RCIU ne sont que partiellement élucidées

(Jansson *et al* 1993). Des études antérieures, faites dans notre laboratoire, sur des lapines gestantes nourries avec une diète enrichie à 0,2% en cholestérol (DEC) démontrent une réduction du poids de leurs rejetons à la naissance (Montoudis *et al.* 1999), bien que le transfert transplacentaire de l'acide linoléique et de la leucine, deux éléments essentiels à la croissance du fœtus, soit normal (Montoudis *et al.* 2004).

Puisque le glucose constitue un élément essentiel au développement fœtal, nous émettons donc l'hypothèse que l'hypercholestérolémie chez les lapins durant la gestation pourrait : 1) modifier le métabolisme maternel et fœtal du glucose et de l'insuline, 2) influencer l'expression génétique et protéique des transporteurs du glucose placentaire, 3) modifier le routage des transporteurs facilités du glucose (GLUT) vers la membrane plasmique. Ces travaux de recherche visent donc à mieux comprendre les mécanismes pouvant être impliqués dans une RCIU induite par l'hypercholestérolémie maternelle.

CHAPITRE I

ÉTAT DES CONNAISSANCES

1.1 MÉTABOLISME DU CHOLESTÉROL LORS DE LA GROSSESSE

La grossesse est caractérisée par plusieurs adaptations anatomiques, physiologiques et métaboliques qui se développent dans l'organisme maternel pour assurer la croissance fœtale. La plus grande disponibilité des substrats et des précurseurs, du métabolisme fœtoplacentaire et de la production hormonale, s'effectue par l'intermédiaire d'une augmentation de l'apport alimentaire et par des modifications endocrines contribuant à améliorer la disponibilité des nutriments.

1.1.1 LE CHOLESTÉROL

Le cholestérol est un élément vital pour la survie cellulaire. Il entre dans la composition des membranes cellulaires et des hormones stéroïdiennes (Rawn 1990). Le cholestérol et ses esters sont transportés par le plasma sanguin sous forme de lipoprotéines, qui sont des particules globulaires de haute masse moléculaire, présentant une membrane formée d'une monocouche de phospholipides et de cholestérol libre, un cœur formé de lipides apolaires (esters de cholestérol et triglycérides (TG)) de même que des apolipoprotéines (Havel *et al.* 1987) (Fig.1).

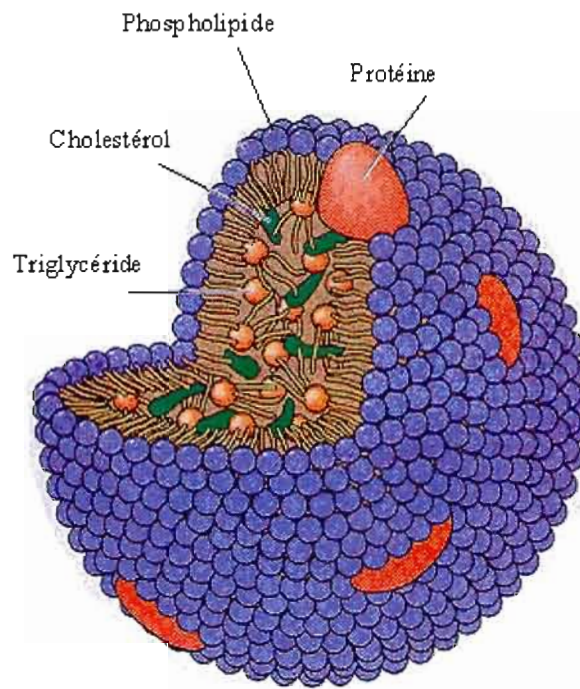


Figure 1. Structure d'une lipoprotéine
(tiré de www.nutrition.arizona.edu/.../chap11/ch11.htm).

Les lipoprotéines transportent les lipides d'un tissu à l'autre, permettant le transport de composés hydrophobes (les lipides) dans un milieu hydrophile (le plasma sanguin). Arrivées à la destination, les lipoprotéines sont captées par des récepteurs spécifiques ou non spécifiques, afin de délivrer leur contenu aux cellules.

1.1.2 LE CHOLESTÉROL PENDANT LA GESTATION

Chez l'humain lors de la grossesse, la concentration en cholestérol total (CT) est augmentée durant les 2^e et 3^e tiers (Chiang *et al.* 1995). Grâce au cholestérol présent dans la circulation maternelle, le placenta va synthétiser de la progestérone, qui, en dehors de la

grossesse, est produite par le corps jaune. Cette hormone a pour effet de relâcher les muscles viscéraux maternels (Holt 1989). Ensuite, elle est transformée au niveau hépatique et surrénalien pour donner des précurseurs des œstrogènes qui retourneront dans le placenta où ils seront transformés en œstrogènes (Pasqualini 2005). Il y a trois types d'œstrogènes: oestradiol, oestriol, oestrone, dont seul l'oestradiol a une action lors de la grossesse. Cette dernière permet, dans l'organisme maternel, une action trophique (nutritive) sur de nombreux tissus (développement de l'endomètre autour de l'œuf, développement de la glande mammaire en vue de l'allaitement...) (Pepe et Albrecht 1994).

Le cholestérol joue également un rôle primordial dans le développement embryonnaire et fœtal. Il est une composante essentielle de la membrane cellulaire, un précurseur d'acides biliaires et des hormones stéroïdiennes, et à la fin de la gestation, une source importante pour la synthèse des glucocorticoïdes fœtaux. Il est également impliqué dans la prolifération et la différenciation des cellules, la production d'énergie, le stockage de composés énergétiques (Martines-Botas *et al.* 1999; Mauch *et al.* 2001; Suarez *et al.* 2002). La demande du fœtus en cholestérol est donc relativement haute. Le cholestérol fœtal provient de sources endogène et exogène : le cholestérol endogène est synthétisé dans le foie fœtal, tandis que le cholestérol exogène est synthétisé par le placenta ou provient de la circulation maternelle (Wadsack *et al.* 2003).

Fait important à noter, chez la lapine, la gestation entraîne une diminution progressive de la concentration du CT jusqu'à atteindre des niveaux non-détectables à terme. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une importante utilisation du cholestérol pour la synthèse des hormones stéroïdiennes (progestérone, œstrogène et cortisol) servant au maintien de la gestation jusqu'à terme (Mitropoulos *et al.* 1981).

1.1.3 EFFET D'UNE DIÈTE ENRICHIÉ EN CHOLESTÉROL SUR LA GESTATION

En vue d'étudier l'effet de l'hypercholestérolémie pendant la gestation et le développement fœtal, plusieurs modèles d'animaux ont été utilisés (Munilla et Herrera

1997; Montoudis *et al.* 1999; Napoli *et al.* 2000; McConihay *et al.* 2001; Alves de Assis *et al.* 2003). Le métabolisme des lapins est très sensible au cholestérol alimentaire et, suite à l'administration d'une alimentation riche en cholestérol, ce dernier s'accumule en grande concentration dans leur plasma (Kovanen *et al.* 1981). Chez les lapines gestantes, une (DEC) entraîne une augmentation des niveaux de CT et des acides gras libres (AGL) dans le plasma maternel par rapport aux lapines non traitées (Montoudis *et al.* 2004). De plus, chez la lapine nourrie avec cette diète, l'activité des enzymes (hépatiques et placentaires) impliquées dans le métabolisme du cholestérol, telles que la hydroxy-3-méthyl-glutaryl coenzyme A-réductase (HMG-CoA-réductase), l'acyl-CoA/cholestérol acyl transférase (ACAT) et la cholestérol-7 α -hydroxylase est modifiée (Montoudis *et al.* 2003). Lors de la gestation chez ces lapines, l'activité hépatique de la HMG-CoA-réductase et celle de la cholestérol-7 α -hydroxylase est réduite par la DEC, alors que l'activité de l'ACAT n'est pas affectée par la DEC, mais est réduite par la gestation (Montoudis *et al.* 2003). Toutefois, au niveau du placenta, seule l'activité de la HMG-CoA-réductase est augmentée (Montoudis *et al.* 2003). Chez les rejetons des lapines nourries avec la DEC, il a été constaté que les niveaux sériques du CT et des TG sont augmentés, alors que, dans le foie des rejetons, l'activité de la HMG-CoA-réductase et ACAT est réduite (Montoudis *et al.* 2004). De plus, il a été démontré que les rejetons présentent une importante diminution de poids de 15,5% à la naissance (Montoudis *et al.* 1999).

Fait intéressant, deux autres études également réalisées avec des lapines gestantes nourries avec une DEC variante de 0,168% à 0,221% n'a pas montré des modifications des niveaux plasmatiques de CT et TG chez les rejetons, cependant ces mêmes fractions dans la circulation maternelle ont été augmentées, mais à des niveaux différents. Dans ces deux mêmes études l'hypercholestérolémie maternelle ne semble pas influencer le poids des rejetons (Napoli *et al.* 2000; Palinski *et al.* 2001).

Chez les rates gestantes, une DEC à 2% entraîne une augmentation de la concentration de TG, de CT et des AGL (Munilla et Herrera 1997). Elle provoque une réduction du HDL-cholestérol dans la circulation maternelle également observée dans le placenta (Munilla et Herrera 1997). Une autre étude similaire, mais utilisant une DEC à

4% a également démontré une augmentation de la concentration de CT dans le plasma maternel des rates (Alves de Assis *et al.* 2003). Toutefois, ces diètes (2% et 4%) ne semblent pas influencer les concentrations en CT et en TG dans la circulation fœtale (Munilla et Herrera 1997; Alves de Assis *et al.* 2003). Cependant, le poids des rejetons des rates nourries à une DEC à 2% est normal (Munilla et Herrera 1997), alors qu'il est diminué chez ceux dont les mères ont été nourries avec une DEC à 4% (Alves de Assis *et al.* 2003). Intéressante, l'étude de Alves de Assis et collaborateurs (2003) a démontré que la DEC à 4% provoque différentes pathologies lors de la grossesse et des anomalies au niveau du développement du fœtus (nombre élevé d'avortements, diminution de nombre de rejetons dans une portée, augmentation du niveau de la mortalité des rejetons et la réduction de la fonction rénale dans la vie adulte).

Finalement, une autre étude faite chez les hamsters Golden Syrian, nourrit avec une DEC à 0,5% ou à 2% a démontré une augmentation de la concentration de CT dans la circulation maternelle et fœtale (McConihay *et al.* 2001).

Au cours de la grossesse chez la femme, une augmentation progressive de 40% du CT et des TG est observée, de plus les LDL sont augmentées de 200-300% (Martin *et al.* 1999). Les concentrations augmentées de CT et des TG ont une influence positive sur les niveaux de la 17 β -estradiol, de la progestérone, de la lactogène placentaire et de l'insuline durant toute la grossesse (Desoye *et al.* 1987). L'augmentation des lipoprotéines pendant la grossesse est causée par leur hypersécrétion et la réduction de leur catabolisme. Cette hyperlipidémie peut à l'occasion induire le développement d'un état hypertensif avec pré-éclampsie, de l'hyperglycémie avec résistance à l'insuline, du diabète gestationnel et de l'obésité maternelle (Martin *et al.* 1999). L'hypercholestérolémie maternelle peut aussi augmenter les risques de développement de maladies cardiovasculaires chez les enfants dans leur vie adulte (Napoli *et al.* 1997).

1.2 GESTATION ET PLACENTATION CHEZ LA LAPINE

La gestation chez les lapines dure environ 31 jours. Les rejets sont au nombre de 8 ± 1 et ont un poids moyen de $48,4 \pm 1$ g au 30^e jour de la gestation (Montoudis *et al.* 1999). À 15 jours de gestation, le placenta de la lapine est de type hémochorial, donc, comparable à celui de la femme. Le sang maternel entre en contact avec le chorion au niveau de la chambre intervillieuse. Toutefois, il n'y a aucun contact entre le sang fœtal et le sang maternel (Nessman-Emanuelli 1983). Puis, après le dix-septième jour, le placenta devient de type hémio-endothélial, le syncytiotrophoblaste ne détruit pas l'épithélium utérin, mais fusionnerait avec celui-ci pour former un syncytium fœto-maternel. Ce placenta ne serait donc pas strictement de type hémochorial puisque le sang maternel est en contact avec un tissu en partie constitué de l'épithélium utérin (Hoffman et Wooding 1993) (Fig.2).

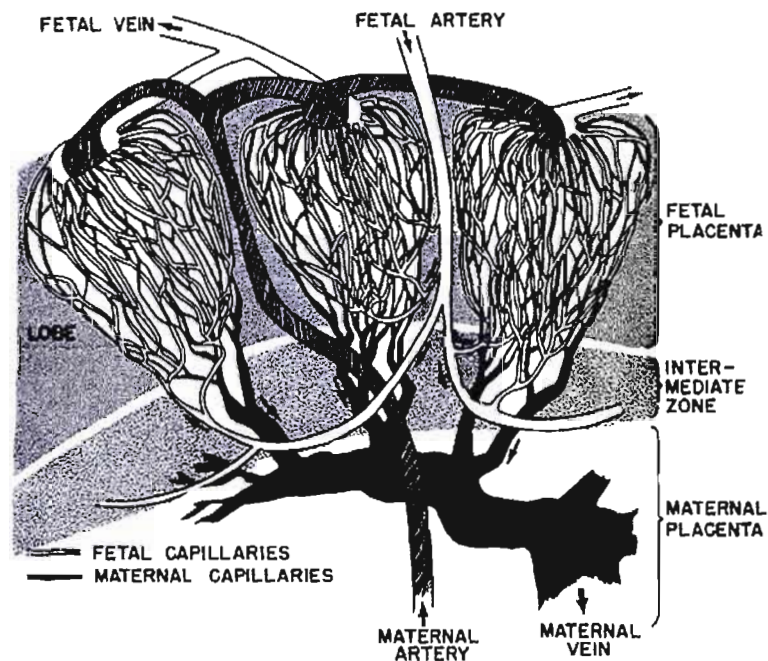


Figure 2. Circulation dans le placenta de lapin
(tiré de <http://medicine.ucsd.edu/CPA/rabbit.html>).

Ainsi, la perméabilité du placenta et les échanges entre les sangs maternel et fœtal y sont plus importants que dans un placenta de type hémochorial. Le placenta a une forme bi-discoïde caractérisée par deux lobes séparés par un profond sillon interlobaire.

1.3 CARACTÉRISTIQUES DU MÉTABOLISME DU GLUCOSE ET DE L'INSULINE

1.3.1 GLUCOSE

Les apports énergétiques au fœtus se font essentiellement par les sucres, en particulier le glucose, qui assurent environ 50% du métabolisme énergétique et permettent la constitution de réserves lipidiques (Jones et Rolph 1985; Fowden 1997). Les cellules fœtales ont besoin d'énergie pour leur développement et leur croissance. Cette énergie est apportée par la dégradation de molécules organiques, parmi lesquelles le glucose est un des plus essentiels (Wachters-Hagedoorn *et al.* 2004). Il est transporté à chaque cellule de l'organisme par la circulation sanguine. Toutes les cellules du corps humain sont capables d'utiliser le glucose pour produire de l'énergie. Cette énergie se présente sous forme d'une molécule d'adénosine triphosphate (ATP) et sa production se réalise en deux temps : la glycolyse, puis la respiration au sein des mitochondries (Pilkis *et al.* 1992). De manière très schématique, la glycolyse permet la dégradation de glucose en pyruvate (Fig.3):

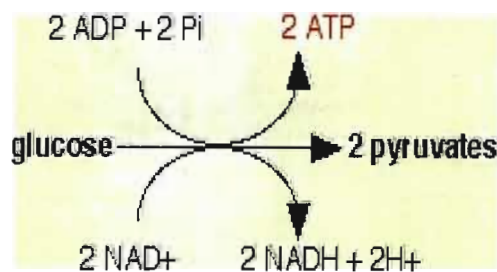


Figure 3. Glycolyse (tiré de www.biochimie.univ-montp2.fr).

Cette dégradation s'accompagne de la synthèse de deux molécules d'ATP utilisables par la cellule. En général, les molécules de pyruvates formées sont ensuite dégradées dans le cycle de Krebs, au sein des mitochondries. Ces réactions s'accompagnent de la formation transitoire de molécules d'acétyl-CoA. Dans certains cas, les molécules de pyruvate permettent la réalisation d'une fermentation, qui régénère les molécules de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+) indispensables au fonctionnement de la glycolyse. La dégradation complète du pyruvate permet donc, grâce à la chaîne respiratoire, de former l'ATP (Fig.4). En conclusion, le glucose, grâce à la glycolyse, au cycle de Krebs et à la chaîne respiratoire, permet la production d'énergie utilisable par la cellule (Baudin 2001).

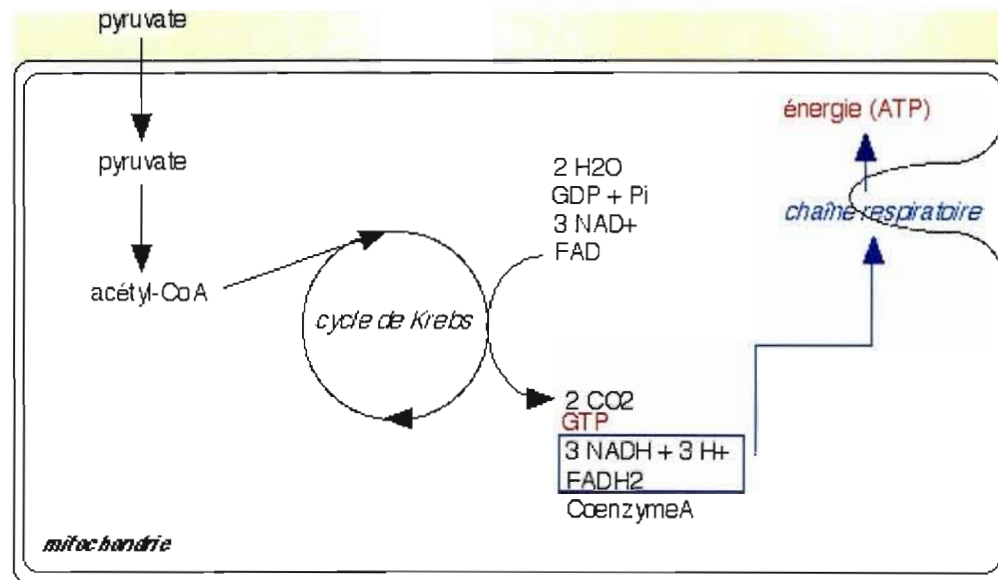


Figure 4. Métabolisme du pyruvate (tiré de www.biochimie.univ-montp2.fr).

1.3.2 INSULINE

La glycémie est sous le contrôle permanent de deux hormones pancréatiques: l'insuline et le glucagon. L'adrénaline, les hormones thyroïdiennes, les glucocorticoïdes et l'hormone de croissance modulent également les taux de glucose sanguin (Boyle *et al.* 1989; Cryer 1993, Jiang et Zhang 2003, Raju et Cryer 2004) (tableau 1).

Tableau 1. Régulation hormonale : un système hormonal complexe régule la glycémie.

	Pénétration intra cellulaire	Activation glycogénolyse Néoglucogenèse	Lypolyse Glycérol ++	Cétogenèse	Résultat sur la glycémie
Insuline	↗	↘	↘	↘	↘
Glucagon		↗	↗	↗	↑
Catécholamines	↘	↗	↗		↑
ACTH			↗		↑
Cortisol	↘	↗	↗		↑
STH	↘		↗		↑

L'insuline est synthétisée sous forme de pré-pro-hormone dans les cellules β des îlots de Langerhans. Son peptide signal est clivé dans les citernes du réticulum endoplasmique et intégré dans les vésicules sécrétoires de l'appareil de Golgi, elle acquiert alors sa conformation puis est verrouillée à l'aide de deux ponts disulfures (Steiner et Tager 1979; Baudin 2001). Des protéases spécifiques clivent le tiers central de la molécule qui se dissocie en formant le peptide C, la partie amino-terminale, tandis que le peptide B reste lié par un pont disulfure au peptide carboxy-terminal A. L'insuline sécrétée par le pancréas est directement infusée par la veine porte dans le foie où elle exerce de profonds changements métaboliques. En plus de son rôle dans la régulation du métabolisme du glucose, l'insuline stimule la lipogenèse, diminue la lipolyse et augmente le transport d'acides aminés vers les cellules (Cerasi 1975). Elle module aussi la transcription, modifiant le contenu cellulaire de nombreux acides ribonucléiques messagers (ARNm). L'insuline stimule la croissance, la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN), la division cellulaire, effets qu'elle partage

avec les « insulin like growth factor » (IGFs) et la relaxine. L'action de l'insuline est consécutive à la stimulation de son récepteur présent à la membrane cellulaire. Son récepteur appartient à la famille de récepteurs à activité tyrosine kinase. En ce qui concerne son rôle dans le maintien de l'homéostasie du glucose hépatique, l'activation du récepteur induit des phosphorylations successives augmentant la mise en réserve de glucose avec une diminution concomitante du glucose hépatique libéré dans la circulation.

La sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas est principalement régulée par le taux plasmatique de glucose. Le mécanisme précis par lequel le glucose induit ce signal n'est pas encore totalement élucidé. Une possibilité serait que l'augmentation de l'entrée du glucose dans les cellules β provoque une augmentation concomitante de son métabolisme. Cette augmentation induirait une élévation du ratio ATP/adénosine diphosphate qui à son tour inhiberait les canaux potassiques ATP-sensibles. Ces effets provoqueraient une dépolarisation cellulaire induisant une entrée calcique et une sécrétion d'insuline (Fraychet 1990).

L'augmentation chronique de nombreuses autres hormones incluant les hormones de croissance, les estrogènes et la progestérone, augmente la sécrétion d'insuline en augmentant la synthèse d'ARNm de pré-pro-insuline et d'enzymes impliquées dans le processus de la synthèse de la pré-pro-hormone. A l'inverse, l'adrénaline diminue la sécrétion d'insuline par une voie qui dépend de l'adénosine monophosphate cyclique. L'adrénaline influence aussi l'homéostasie du glucose par l'interaction avec des récepteurs alpha-adrénergiques (Lembo *et al.* 1994).

1.3.3 METABOLISME DU GLUCOSE MATERNEL LORS DE LA GROSSESSE

Pour répondre aux exigences croissantes du fœtus, des ajustements métaboliques et hormonaux s'établissent chez la mère. Lors de la grossesse, le métabolisme du glucose est perturbé; la production du glucose hépatique est augmentée et son utilisation par les tissus diminue pour maintenir la croissance du fœtus (Di Cianni *et al.* 2003). Lors d'une grossesse normale, l'homéostasie du glucose est maintenue grâce à une augmentation de la sécrétion d'insuline. Durant les deux premiers trimestres, un anabolisme tissulaire intense

accompagne une sensibilité accrue à l'insuline, puis, au troisième trimestre, une insulino-résistance associée à une réduction de la sensibilité tissulaire à l'insuline jusqu'à 80% et à une augmentation de la sécrétion d'insuline se développe (Butte 2000). Cette augmentation est associée à une hypertrophie et à une hyperplasie des cellules β du pancréas maternel (Van Assche *et al.* 1978). L'insuffisance des mécanismes d'adaptation ou les altérations des cellules β entraînent le développement du diabète gestationnel qui se retrouve dans 2 à 4% des grossesses et affecte à la fois la mère et le bébé (Di Gianni *et al.* 2003). Ces altérations pourraient être dues à des mutations de la glucokinase (5% des cas de diabète gestationnel) (Chiu *et al.* 1994) ou à des processus auto-immuns (< 10%) (Damm *et al.* 1994). La majorité des cas d'insuffisance des cellules β lors de la grossesse demeure encore inconnue.

1.3.4 METABOLISME DE L'INSULINE LORS DE LA GROSSESSE

L'insuline est dosable dans la circulation fœtale dès la fin du premier trimestre. Sa sécrétion est modulée par les concentrations sériques fœtales en acides aminés, puis en glucose (Fowden 1995; Fowden et Hill 2001). Les mécanismes d'action de l'insuline sont divers: elle peut stimuler au niveau fœtal l'apport transplacentaire du glucose, la synthèse du glycogène et des protéines, la prolifération cellulaire et augmenter le taux d'IGFI. En cas de diabète maternel, l'hyperglycémie maternelle induit de façon linéaire une hyperglycémie fœtale responsable d'un hyperinsulinisme fœtal (Salvesen *et al.* 1993; Schwartz *et al.* 1994). Il en résulte une macrosomie fœtale avec augmentation de la masse graisseuse qui reflète à la fois l'action trophique directe de l'insuline et ses effets métaboliques, notamment lipogéniques (Susa *et al.* 1984). À l'inverse, l'agénésie pancréatique avec les états d'hyperinsulinisme maternel induit un RCIU sévère.

1.4 CROISSANCE PRÉNATALE

1.4.1 CROISSANCE PRÉNATALE ET FACTEURS MATERNELS

Des facteurs maternels sont impliqués dans la croissance prénatale tout au long de la gestation, et même dès la phase préimplantatoire. Ce sont tout d'abord des facteurs environnementaux liés aux conditions de vie (carences nutritionnelles, altitude...), à l'exposition aux agents toxiques (tabac, alcool, cocaïne...) et infectieux qui perturbent ou ralentissent la croissance et le développement de l'embryon, du fœtus et du nouveau-né (Cornelius *et al.* 2002). Le génome maternel a lui aussi un rôle primordial dans les jours qui suivent la fécondation et avant l'implantation. Enfin, les qualités mécaniques et fonctionnelles (synthèse de facteurs paracrines) de l'environnement tubaire et utérin ne sont pas négligeables. Les contraintes mécaniques et physiques sont en partie responsables de la plus petite taille des nouveau-nés issus des grossesses multiples (Han 1999).

1.4.2 CROISSANCE PRÉNATALE ET FACTEURS EMBRYONNAIRES

Le développement embryonnaire et placentaire se fait de façon concomitante et intriquée. Il comprend schématiquement trois étapes: une étape de morphogenèse, une étape d'organogenèse, et une étape de différenciation et de spécialisation cellulaire (Rappoport 1993). Ces étapes sont principalement sous le contrôle du génome zygotique. Différents gènes sont impliqués dans ces processus de morphogenèse et de développement de l'embryon et du placenta. Les étapes de migration et de différenciation cellulaire font intervenir des facteurs de croissance tels que « l'epidermal growth factor » (EGF), le « vascular epidermal growth factor », les IGFs, la superfamille du « transforming growth factor- β » (TGF- β) et les protéines morphogéniques osseuses (Hernandez-Valencia *et al.* 2001). La plupart de ces facteurs sont produits par le placenta dont ils conditionnent l'organisation et la structure définitive acquise à la fin du premier trimestre. Leur expression anormale pourrait donc perturber l'implantation, l'arborisation villositaire du

placenta, la différenciation du trophoblaste, la vascularisation placentaire, et donc le développement et la croissance fœtal (Gluckman et Harding 1992; Leperco et Mahieu-Caputo 1998; Wollman 1998).

1.4.3 CROISSANCE PRÉNATALE ET FACTEURS FŒTAUX

La croissance fœtale implique elle aussi des facteurs de croissance et des hormones qui exercent des actions de type autocrine, paracrine et endocrine. La plupart de ces hormones sont détectables dès le début du second trimestre dans la circulation fœtale. Leur(s) récepteur(s) a (ont) été caractérisé (s) au niveau tissulaire avec une maturation progressive du rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire au cours de la grossesse (Sibley *et al.* 1997; Challis *et al.* 2001; Fowden et Hill 2001). Ces hormones ne sont pas directement impliquées dans la croissance somatique. En revanche, elles stimulent la maturation spécifique de nombreux tissus en induisant la synthèse d'enzymes et de facteurs tissulaires comme l'IGF-1 (Price *et al.* 1992; Sloboda *et al.* 2002). Les hormones thyroïdiennes, hypophysaires et surrénaliennes agiraient sur le métabolisme fœtal en relation avec son état de stress et son état nutritionnel (Fowden 1995; Han 1999). L'insuline et les IGFs exercent quant à eux un rôle essentiel dans la croissance fœto-placentaire via leurs effets mitogéniques et métaboliques (Fowden 1992; Fowden 2003). L'IGF-1 et l'IGF-2 sont des facteurs de croissance tissulaires qui agissent sur des récepteurs membranaires voisins de ceux de l'insuline. Les IGFs jouent un rôle important dans la croissance du fœtus puisqu'ils modulent la prolifération cellulaire et l'utilisation tissulaire des nutriments en relation avec son statut nutritionnel (Wilson *et al.* 1982; Verhaeghe *et al.* 1996; Gude *et al.* 2004). Le niveau des IGFs dans le sang du cordon est diminué en présence de RCIU en comparaison d'une grossesse normale (Lassarre *et al.* 1991; Langford *et al.* 1995; Leger *et al.* 1996; Nieto-Diaz *et al.* 1996). L'expression des gènes codant pour les IGFs et de leurs protéines de liaison est contrôlée par les corticoïdes et les hormones thyroïdiennes, notamment en relation avec l'état de stress du fœtus. Il en résulte une modulation des concentrations en IGFs et de leur biodisponibilité. *In utero*, l'expression des IGFs n'est probablement pas

contrôlée par l'hormone de croissance (GH) hypophysaire, mais plutôt par l'apport de nutriments et par l'insuline (Murphy 2006). L'action des hormones fœtales sur la croissance prénatale est donc intimement liée au statut nutritionnel du fœtus qui dépend essentiellement des apports maternels via le placenta.

1.4.4 CROISSANCE PRÉNATALE ET FACTEURS PLACENTAIRES

1.4.4.1 Métabolisme placentaire

Le placenta est un organe de fonctionnement autonome, de durée de vie limitée et programmée. Il est le site d'échanges nutritifs et gazeux entre la mère et le fœtus et il produit de nombreuses hormones et facteurs de croissance nécessaires au maintien de la gestation et au développement fœtal (Popek 1999). Le placenta est par ailleurs un tissu évolutif à forte croissance dont le métabolisme est très actif. A titre d'exemple, 60% du glucose extrait de la circulation maternelle par un mécanisme de diffusion facilitée est utilisé par le placenta pour son propre métabolisme (Schneider *et al.* 1996). Un équilibre complexe est donc nécessaire entre un métabolisme orienté vers la survie et le développement du placenta et un métabolisme orienté vers la nutrition du fœtus. Chez l'humain, l'hormone chorionique gonadotrope du trophoblaste maintient le corps jaune dans un état actif, lui permettant de sécréter la progestérone. À un stade plus avancé durant la grossesse, cette fonction est assurée par le placenta (Porter *et al.* 1982). Si le placenta humain est un organe endocrinien extrêmement actif (Alsat et Évain-Brion 1998), il n'est cependant pas totalement autonome en ce qui concerne les mécanismes de la stéroïdogenèse. Une autre particularité du trophoblaste est la possibilité d'inactiver le cortisol maternel ou fœtal en cortisone, ce qui permet un contrôle précis de la quantité de glucocorticoïdes actifs qui parvient au fœtus. Le placenta humain sécrète également de nombreuses hormones polypeptidiques; certaines comme l'hormone lactogène placentaire (hPL), aussi appelée hormone chorionique somatomammotrophique, sont connues depuis de nombreuses années mais leurs rôles physiologiques restent encore à élucider. Enfin, la production de neuropeptides a été mise en évidence dans le placenta, bien que celui-ci soit

dépourvu d'innervation. Récemment, la production de leptine a également été démontrée dans le placenta, et sa concentration sérique augmente au cours de la grossesse chez la femme (Masuzaki *et al.* 1997).

Par contre, chez la lapine, le placenta n'est pas un organe endocrinien actif (Malassine *et al.* 2000), ce sont plutôt les ovaires qui sont indispensables lors de la gestation, car ils produisent les hormones, en particulier la progestérone, qui maintiennent la grossesse jusqu'à terme (Lytton et Poyser 1982). Les blastocystes placentaires synthétisent une importante fraction de l'estrogène, et celui-ci joue un rôle majeur dans le maintien lutéal et dans la biosynthèse de la progestérone (Holt 1989). De plus, pendant la gestation de la lapine, la concentration plasmatique de progestérone demeure élevée (Kriesten et Murawski 1988). Par contre, le placenta de lapine produit l'hPL, qui provoque la sécrétion lactée chez les lapines et est analogue à la prolactine (Lin *et al.* 2000). Elle n'a pas un rôle lactogène, mais participe avec les stéroïdes sexuels dans la préparation de la glande mammaire à la lactation. Cette hormone contrôle ainsi la mobilisation des lipides maternels (Gootwine 2004).

Enfin, de nombreux facteurs de croissance et des cytokines sont synthétisés par le placenta, ceux-ci jouant, via des mécanismes autocrines ou paracrines, un rôle dans son développement et dans le maintien de ses fonctions différenciées (Popek 1999).

Le placenta constitue au sens large «une barrière protectrice» contre les différents agents toxiques et infectieux, cependant certains de ces agents peuvent franchir cette barrière d'emblée, ou par suite de présence de lésions du placenta (Myllynen *et al.* 2005). En outre, le placenta constitue également une barrière incomplète contre les effets nocifs de certains médicaments: ainsi, les antibiotiques et les corticoïdes passent la barrière placentaire, en plus, certaines hormones stéroïdiennes traversent également le placenta en fonction de leur taille (Reali *et al.* 2005).

De plus, en considérant que les poumons fœtaux sont remplis de liquide pulmonaire, le placenta doit assurer la fonction respiratoire. Le placenta a, de plus, une fonction excrétrice pour l'élimination des déchets dans le liquide amniotique (Yllera *et al.* 2003).

1.4.4.2 Transfert placentaire

La capacité du placenta à transférer les nutriments d'origine maternelle dans la circulation fœtale conditionne le développement et la croissance du fœtus. Les nutriments (glucose, acides aminés, lipides, vitamines et oligo-éléments), l'oxygène et l'eau assurent ses besoins oxydatifs, sa croissance et la constitution de ses réserves énergétiques (Sibley *et al.* 1997). L'apport en nutriments, influencé par des facteurs spécifiques au milieu intra-utérin, augmente au fur et à mesure que se développe l'unité fœto-placentaire.

La perméabilité placentaire augmente progressivement pour atteindre son maximum au terme de la gestation. Les transferts nutritionnels fœto-placentaires augmentent donc qualitativement et quantitativement (Sibley *et al.* 2002). Chacun des nutriments apportés par le sang maternel gagne la circulation fœtale via des mécanismes spécifiques de transfert (Glazier *et al.* 1999). Ainsi le passage des nutriments au travers du placenta équivaut à un transfert transmembranaire (Economides *et al.* 1989; Sibley *et al.* 1997), dont les mécanismes peuvent être de 3 types (Fig.5):

1. Diffusion simple : qui se fait selon un gradient de concentration (ceci n'affecte que les petites molécules : eau, urée...) (Sibley et Boyd 1992).

2. Diffusion facilitée : ce passage se fait toujours grâce au gradient de concentration, mais il est facilité par l'intervention de molécules transporteuses (ce mode de transport concerne l'O₂ et le glucose) (Muecler 1994; McGowan *et al.* 1995; Olson and Pessin 1996). Ces 2 types de transport ne consomment pas d'énergie.

3. Transport actif : il permet le passage de molécules contre le gradient de concentration et est associé à une consommation d'énergie. Il s'effectue par l'intermédiaire d'un transporteur spécifique de la molécule. Ces molécules sont captées au niveau des récepteurs de la membrane placentaire, qui les transportent à l'intérieure de la cellule. Ce type de transport dépend des récepteurs présents sur la membrane, et leurs nombres et leurs types augmentent au cours de la grossesse. Les molécules transférées par ce mécanisme sont principalement le fer, le calcium et les acides aminés (Dicke et Verges 1994; Jansson *et al.* 1998).

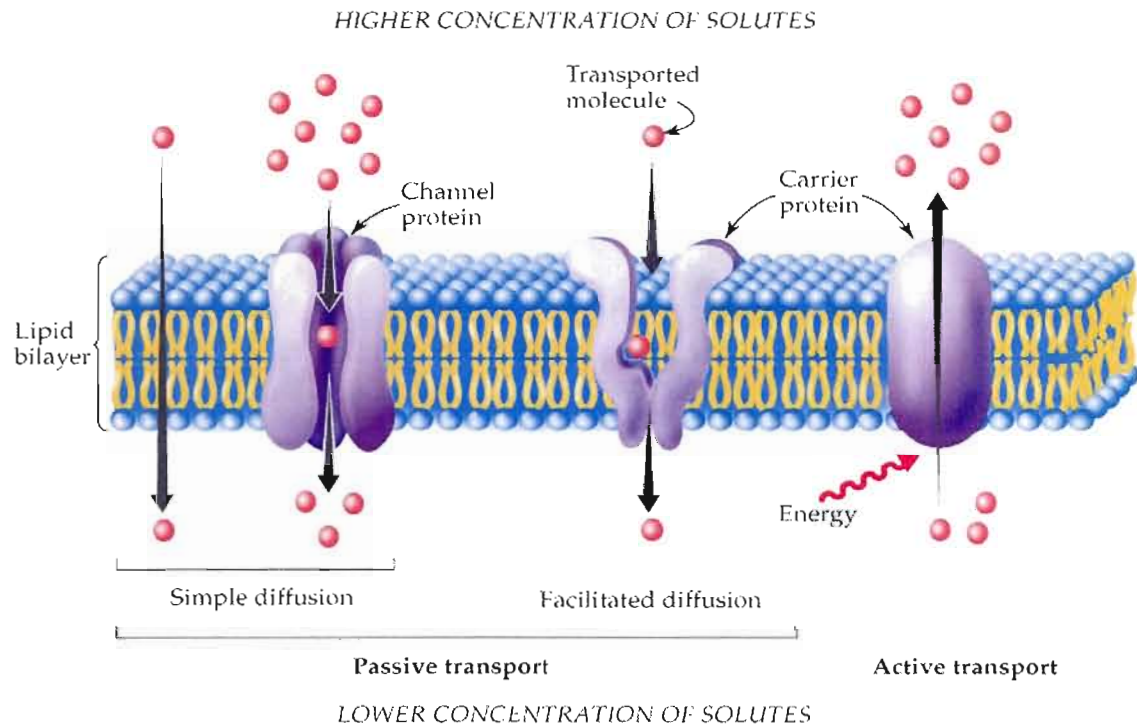


Figure 5. Mécanismes d'un transfert transmembranaire (tiré de http://cwx.prenhall.com/bookbind/pubbooks/mcmurrygob/medialib/media_portfolio/text_images/FG24_08.JPG).

Oxygène

Le placenta possède une très grande capacité d'extraction de l'oxygène et du glucose maternel et, dans une moindre mesure, des autres nutriments. L'oxygène est, pour la moitié, utilisé par le placenta pour son propre métabolisme et pour l'autre moitié par le fœtus dont le métabolisme énergétique est essentiellement aérobique malgré une pression partielle d'oxygène (P_{vO_2}) relativement faible de la veine ombilicale. En cas de privation d'apport en oxygène, la capacité d'extraction de l'oxygène du compartiment maternel est conservée, ce qui permet au placenta et au fœtus de préserver en priorité leur métabolisme énergétique. L'oxygène est utilisé pour l'oxydation du glucose qui représente la principale source d'énergie du placenta et du fœtus.

Acides aminés, lipides et calcium

Les acides aminés qui circulent à des concentrations plasmatiques très variables sont extraits de la circulation maternelle pour être utilisés essentiellement par le fœtus et très peu par le placenta (Glaser et al. 1999; Battaglia et Regnaut 2001). Tout comme le glucose, ces acides aminés sont d'abord utilisés pour fournir de l'énergie au fœtus, puis pour constituer ses réserves protéiques et glucidiques (protéines et glycogène musculaires).

Les lipides (cholestérol, TG, acides gras libres (AGL)) et les lipoprotéines augmentent dans le sang maternel, surtout en fin de grossesse. Ils sont utilisés pour un tiers environ par le placenta et pour deux-tiers par le fœtus. Les AGL peuvent soit diffuser librement à travers le syncytium et gagner la circulation fœtale, soit être estérifiés et stockés sous forme de TG placentaires qui à leur tour sont dégradés pour restituer des AGL au fœtus (Haggarty 2002). Les lipoprotéines, notamment les LDL, seront captées via des récepteurs spécifiques et traverser la barrière syncytiale par endocytose. Ces lipoprotéines subissent au niveau du placenta l'action de lipases délivrant ainsi le cholestérol, les TGs et des AGL tant au placenta qu'au fœtus. Il n'existe ni au niveau placentaire, ni au niveau fœtal, de synthèse *de novo* de cholestérol (Alsat et Evain-Brion 1998). Ces lipides vont être essentiellement utilisés pour l'établissement de réserves lipidiques et glucidiques fœtoplacentaires puisqu'ils ne sont pratiquement pas oxydés à des fines énergétiques.

Pour le calcium, les apports sont entièrement dirigés vers le fœtus pour permettre la minéralisation de ses os (Belkacemi *et al.* 2004).

1.5 TRANSPORT DU GLUCOSE

Le glucose joue un rôle important dans le développement intra-utérin du fœtus (Battaglia et Meshia 1978; Takata et Hirano 1997). En effet, il représente pour le fœtus une source d'énergie et un facteur de croissance (Aldoretta et Hay 1995). Le glucose fourni en fin de grossesse 80% des besoins oxydatifs fœto-placentaires, ce qui représente 70% de l'utilisation totale du glucose par la mère. La glycémie fœtale est liée de façon linéaire à la glycémie maternelle, car le fœtus ne produit pas de glucose en raison de son immaturité

hépatique (Herrera 1985) et correspond à environ au 2/3 de celle maternelle. De plus, le placenta utilise à lui seul la moitié du glucose capté dans la circulation maternelle (Schneider *et al.* 1981). Ce glucose est en priorité oxydé pour produire de l'énergie tant au niveau du placenta qu'au niveau du fœtus. L'excédent de glucose sert ensuite à l'élaboration des réserves en glycogène et en TG au niveau du placenta, du foie et du muscle fœtal. Ce métabolisme évolue au cours de la grossesse. Ainsi, une partie du glucose sert en début de grossesse, à la synthèse du glycogène placentaire, alors qu'en fin de grossesse, il sert à la production de lactate qui sera à son tour oxydé pour fournir de l'énergie. La régulation de l'apport en glucose maternel implique des protéines hormonales d'origine syncytiale, sécrétées de façon continue et croissante dans la circulation maternelle. La plus ancienne est l'hPL dont le rôle physiologique n'est encore pas clairement établi. Chez la mère, elle induirait une insensibilité à l'insuline et permettrait ainsi en cas de jeûne prolongé de maintenir un apport glucosé suffisant au fœtus. La seconde est l'hormone de croissance placentaire (pGH) qui module les concentrations sériques maternelles en IGF-1 (Lacroix *et al.* 2003). Cette hormone semble surtout réguler le métabolisme maternel pour assurer un apport glucosé constant au fœtus. L'hyperglycémie maternelle entraîne une diminution de la pGH sérique.

1.6 TRANSPORTEURS DU GLUCOSE

1.6.1 STRUCTURE ET NOMENCLATURE

L'entrée du glucose à travers la membrane cellulaire représente un des plus importants systèmes de transport de nutriments dans les cellules de mammifères, puisque l'énergie fournie par le métabolisme du glucose joue un rôle capital dans le maintien de l'homéostasie et donc, de la survie cellulaire. Les glucides arrivent au fœtus par diffusion facilitée, ce qui permet de maintenir égaux les taux de glycémie fœtaux et maternels (Illsley 2000). Le glucose passe donc à travers la membrane cellulaire grâce à des mécanismes passifs, représentés par les sodium dependent glucose transporters (SGLT) et les GLUTs

(Takata et Hirano 1997; Joost et Thorens 2001). Biochimiquement, les GLUTs sont composés d'environ de 500 acides aminés, et possèdent 12 domaines transmembranaires, dont les extrémités N- et C-terminales pointent vers le cytoplasme (Bell *et al.* 1993) (Figure 6).

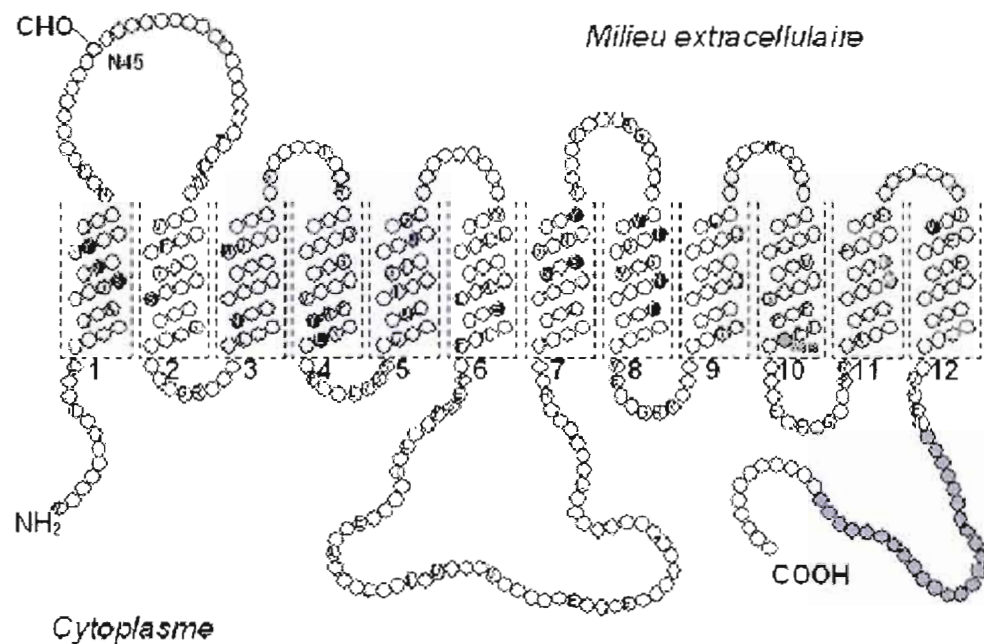


Figure 6. Structure moléculaire d'un GLUT (tiré de Bell *et al.* 1993).

La famille des GLUTs compte à ce jour 14 isoformes (GLUT1 à GLUT14) qui peuvent être divisés en 3 sous-familles en fonction de leur similarité de séquence en acides aminés (Fig.7) (Illsley 2000; Joost et Thorens 2001; Augustin *et al.* 2004).

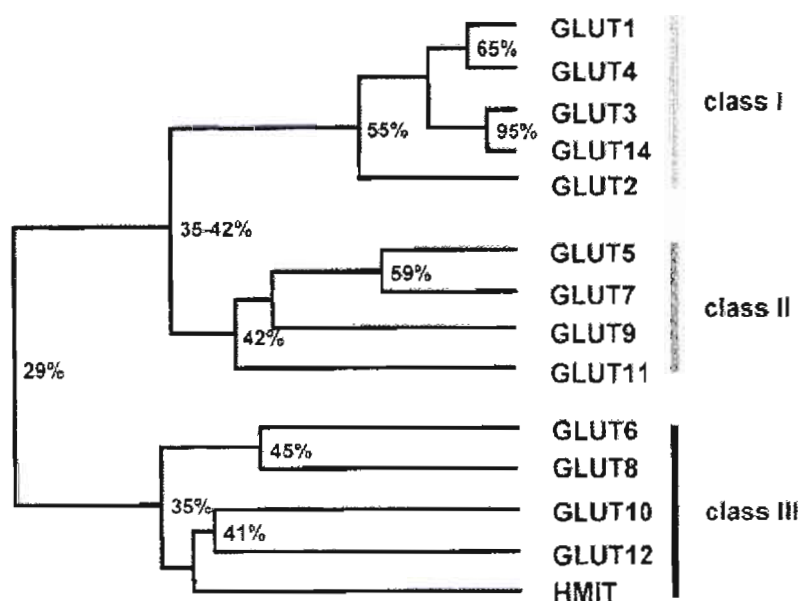


Figure 7. Dendrogramme des GLUTs humaines. Les chiffres indiquent le pourcentage d'identité (tiré de Scheepers *et al.* 2004).

1.6.2 MECANISME D'ACTION

Au début des années 80, deux groupes de chercheurs se sont intéressés à étudier les mécanismes cellulaires contribuant à l'augmentation de la captation du glucose dans les tissus cibles de l'organisme (Cushman et Wardzala 1980; Suzuki et Kono 1980). Ils ont alors utilisé l'insuline comme modèle expérimental afin de démontrer que le principal mécanisme par lequel cette hormone stimule la captation du glucose dans les cellules adipeuses s'effectuait par la translocation de transporteurs de glucose à partir d'un compartiment intracellulaire jusqu'à la membrane plasmique (Cushman et Wardzala 1980; Suzuki et Kono 1980). Il est connue que le GLUT1 est localisé principalement à la membrane plasmique des cellules et est responsable du transport de glucose basal au niveau des tissus insulino-sensibles (Zorzano *et al.* 1989; Marette *et al.* 1992). Ce transporteur est également retrouvé dans les membranes internes du tissu adipeux. Dans ce dernier tissu, il a

été démontré que l'insuline induisait une augmentation de la translocation du GLUT1 à la membrane plasmique, avec une diminution concomitante de ce transporteur à partir d'un réservoir interne contenant environ 50% de la totalité des GLUT1 (Kahn *et al.* 1987; James *et al.* 1988; Slot *et al.* 1991; Czech et Buxton 1993). Ainsi, une stimulation par l'insuline augmente la translocation du GLUT1 dans le myocyte cardiaque de rats (Zorzano *et al.* 1997) et dans la cellule musculaire L6 (Klip *et al.* 1993). Par contre, dans la cellule trophoblastique humaine, la translocation du GLUT1 de la surface cellulaire vers un compartiment intracellulaire est observée en présence d'hyperglycémie (Hahn *et al.* 2000). En ce qui concerne le GLUT4, à son état basal, il est localisé principalement au niveau intracellulaire. Sous l'action de l'insuline, le niveau de translocation du GLUT4 à la membrane plasmique est augmenté dans les adipocytes et les muscles squelettiques et cardiaques (Guinett-Deniau *et al.* 1994; Zierath *et al.* 1996; Malide et Cushman 1997; Zorzano *et al.* 1997). Dans la cellule adipeuse, sa translocation est cinq fois plus importante à celle du GLUT1 (Calderhead *et al.* 1990).

1.6.3 DISTRIBUTION TISSULAIRE

Les GLUTs diffèrent en terme de distribution tissulaire, de caractéristiques cinétiques et de spécificité relative au type d'hexoses transportés (Tableau 2).

La localisation, la fonction et l'expression des GLUTs ont été étudiées chez les mammifères dans différents tissus maternels, fœtaux et dans le placenta durant la gestation normale, ainsi que lors des gestations pathologiques telles que le RCIU, le diabète mellites de types I et II ou le diabète gestationnel (Jansson *et al.* 2001; 2002; Kitano *et al.* 2002; Limesand *et al.* 2004). Outre les isoformes GLUT1 et GLUT3 qui sont des GLUTs majeurs au niveau du placenta, des études ont démontré que plusieurs isoformes des GLUTs (GLUT4, GLUT9ΔN, GLUT9, GLUT8 et GLUT12) sont exprimés dans le tissu placentaire (Carayannopoulos *et al.* 2000; Gude *et al.* 2003; Augustin *et al.* 2004; Ericsson *et al.* 2005).

Tableau 2. Les GLUTs : distribution tissulaire et fonction biologique.

Nom	Distribution tissulaire	Fonction biologique
GLUT 1	Placenta, muscle, érythrocytes, tissu adipeux, cerveau (vaisseaux), cellules endothéliales	Transport du glucose basal et à travers la barrière hémato-encéphalique et hémato-tissulaire
GLUT 2	Foie, cellules β du pancréas, intestin, tube rénal proximal	Transport bidirectionnel du glucose dans les hépatocytes Relâche du glucose par les cellules de l'intestin et du rein Senseur du glucose dans les cellules β du pancréas
GLUT 3	Placenta, cerveau (neurones), rein, foie, intestin	Transporteur principal du glucose au niveau des neurones
GLUT 4	Muscles squelettique et cardiaque, cerveau, placenta, tissu adipeux blanc et brun	Transport du glucose régulé par l'insuline et la contraction
GLUT 5	Intestin, testicules, reins, tissu adipeux	Transport du fructose
GLUT 6	Cerveau, rate, leucocytes	
GLUT 7	Hépatocytes	
GLUT 8	Testicules, cerveau, placenta, muscles squelettique et cardiaque, blastocyte, intestin	Transport du glucose insulinosensible au niveau des blastocytes
GLUT 9	Leucocytes, cerveau, reins (membrane basolatérale), foie, placenta	Transport du glucose, mécanismes de régulation inconnus
GLUT 9AN	Reins (membrane apicale), placenta	
GLUT 10	Foie, pancréas, muscles squelettique et cardiaque, cerveau, placenta	Proposé comme gène de susceptibilité au diabète

Nom	Distribution tissulaire	Fonction biologique
GLUT 12	Muscles squelettique et cardiaque, prostate, intestin grêle, tissu adipeux blanc, placenta	Transport du glucose, mécanismes de régulation inconnus
GLUT 14	Testicules	

Plus particulièrement, il a été démontré que l'isoforme insulino-dépendant GLUT4 est fortement impliqué dans le transfert du glucose au début de la grossesse (Ericsson *et al.* 2005). L'isoforme GLUT8 est abondamment exprimé dans les testicules, les blastocytes et à un plus faible niveau dans le placenta (Carayannopoulos *et al.* 2000; Doege *et al.* 2000; Ibberson *et al.* 2000; Phay *et al.* 2000). De plus, une de ces études révèle que GLUT8 est mobilisé à la surface cellulaire par l'insuline et contribue à l'augmentation du transport du glucose dans les blastocytes (Carayannopoulos *et al.* 2000).

Au niveau placentaire, le GLUT1 est présent dans le syncytiotrophoblaste (Jansson *et al.* 1993; Knipp *et al.* 1999); le GLUT3 dans l'endothélium vasculaire (Head *et al.* 1999); le GLUT4 dans les cellules du stroma intravilleux (Xing *et al.* 1998); le GLUT8 dans l'épithélium utérin et chorionique (Limesand *et al.* 2004). Le GLUT12 est quant à lui présent dans le syncytiotrophoblaste et dans les cellules extravilleuses lors du premier trimestre de la gestation, et dans les cellules du stroma en fin de gestation (Gude *et al.* 2003). La présence du GLUT9 et du GLUT9 Δ N (ARNm) a également été observée dans le placenta humain (Augustin *et al.* 2004).

1.7 PARTICULARITÉS DES TRANSPORTEURS DU GLUCOSE

1.7.1 GLUT1

GLUT1 a été le premier isoforme à être caractérisé dans les cellules de mammifères. Son expression a été observée dans plusieurs tissus, principalement au niveau du placenta, du cerveau, des érythrocytes, des yeux, des reins et à un moindre niveau dans les tissus insulino-sensibles i.e. les muscles squelettique et cardiaque ainsi

que les tissus adipeux blanc et brun (Illsley 2000; Joost et Thorens 2001). De façon générale, l'expression du GLUT1 est augmentée par une variété de stimuli qui favorisent la croissance ou la division cellulaire requérant davantage d'énergie, comme l'insuline, le PDGF, l'IGF-1, le TGF- β , les hormones thyroïdiennes, l'hormone de croissance, ainsi que certains oncogènes (Birnbaum *et al.* 1987; Rollins *et al.* 1988; Maher *et al.* 1989; Tordjman *et al.* 1989; Kitagawa *et al.* 1991; Tai *et al.* 1990; Weinstein *et al.* 1990). Cependant, le glucose exerce un effet contraire sur l'expression du GLUT1 (Walker *et al.* 1988; Wertheimer *et al.* 1991).

Chez la femme, le GLUT1 est exprimé dans le placenta, les muscles, le tissu adipeux, les érythrocytes, le cerveau et les cellules de la barrière hémato-tissulaire (Takata *et al.* 1993; Muecler 1994), alors que chez les rates, il est exprimé dans le placenta, le cerveau, le foie, ainsi que dans les adipocytes (Gould *et al.* 1993). Chez l'humain, le GLUT1 est présent au niveau du syncytiotrophoblaste sur les membranes de bordure en brosse (BBM) et les membranes basales (BPM), cependant, la distribution du GLUT1 est asymétrique, il a y 5 fois plus de transporteurs dans la BBM que dans la BPM, ce qui confirme la régulation du transport du glucose par la glycémie maternelle (Barros *et al.* 1995; Vardhana et Illsley 2002). Il a aussi été démontré que la BPM constitue une barrière limitante pour le transport transplacentaire de glucose (Vardhana et Illsley 2002).

1.7.1.1 GLUT1 et le diabète

Dans le placenta de femmes diabétiques (diabète gestationnel et diabète mellitus), deux fois plus de GLUT1 sont retrouvés dans la BPM, comparativement aux femmes sans pathologie (Gaither *et al.* 1999). Par ailleurs, chez les femmes ayant un diabète mellitus de type I, une augmentation du transport transplacentaire de glucose a été observée durant le troisième trimestre de la grossesse, alors qu'un présence de diabète gestationnel ce transport n'est pas altéré (Jansson *et al.* 2001).

Chez les brebis, la concentration en protéine du GLUT1 placentaire est diminuée en présence d'une hyperglycémie maternelle physiologique, sans état morbide. Cette

diminution pourrait être l'un des mécanismes de défense du fœtus contre l'hyperglycémie, car une augmentation du glucose pourrait provoquer une hypoxie fœtale, une acidose des tissus ou d'autres formes de toxicité par le glucose (Schroeder *et al.* 1997; Das *et al.* 1999). Une diminution de la concentration du GLUT1 placentaire est également observée chez les souris gestantes, rendues diabétiques suite à l'administration de la streptozotocine (STZ). Fait intéressant dans cette étude, le poids des rejetons à la naissance est diminué (Ogura *et al.* 1999).

Par contre, chez les rates diabétiques gestantes, l'ARNm et la protéine GLUT1 placentaire ne sont pas modifiés, mais le poids de leurs rejetons est diminué (Boileau *et al.* 1995). Cependant, le transfert transplacentaire du 2-déoxyglucose et du glycogène est augmenté chez les rates diabétiques, en comparaison avec les rates contrôles. De plus, l'insuffisance placentaire suite à une ligature de l'artère utérine accompagnée d'hypoxie et d'hypoglycémie fœtale entraîne une diminution de la concentration du GLUT1 dans le placenta (Das *et al.* 1998).

1.7.1.2 GLUT1 et le RCIU

Une hypoglycémie est retrouvée chez les fœtus humains présentant une RCIU. Dans ce contexte, le transfert transplacentaire du glucose et l'expression protéique du GLUT1 placentaire ne sont pas altérés. Les auteurs suggèrent que l'hypoglycémie fœtale observée dans cet état pourrait être causée par d'autres mécanismes d'adaptation (Jansson *et al.* 2002).

L'expression du GLUT1 et le transport du glucose en présence d'une RCIU ont été étudiés en utilisant plusieurs modèles animaux (Das *et al.* 1998; Pickard *et al.* 1999; Langdown et Sugden 2001). Les résultats de ces études sont souvent contradictoires. Chez les rats gestantes, l'induction d'une RCIU par un traitement au dexaméthasone a conduit à l'augmentation de l'expression de GLUT1 placentaire, et ce de façon dose-dépendante (Langdown et Sugden 2001). Une diminution de 50% de l'expression protéique du GLUT1 a été retrouvée dans le placenta lors d'une RCIU induite par une ligature de l'artère utérine

(Das *et al.* 1998). De plus, une hypothyroxinémie maternelle induit une RCIU et en conséquence une réduction de l'expression protéique du GLUT1 est observée dans le placenta et dans le cerveau fœtal, cependant aucune modification du niveau d'ARNm du GLUT1 n'a été démontrée dans ces mêmes tissus (Pickard *et al.* 1999).

1.7.2 GLUT2

Chez l'humain, le GLUT2 se trouve dans le foie, l'intestin, les reins et les cellules β du pancréas (Thorens *et al.* 1992). Il joue un rôle dans la stimulation du transport du glucose dans les cellules β . Dans le foie, le GLUT2 est retrouvé dans la membrane sinusoïdale des hépatocytes. Il régule le transport de glucose sous contrôle hormonal et prépare les voies pour le transfert du glucose et du fructose dans les entérocytes et les tubes rénaux proximaux (Wood *et al.* 2003). Il est à noter qu'aucune expression protéique du GLUT2 n'a été détectée dans le placenta humain à ce jour (Jansson *et al.* 1995).

1.7.3 GLUT3

Chez l'humain, le GLUT3 est présent dans les cellules de l'intestin, les tissus nerveux et l'endothélium vasculaire (Huaguel-de-Mauzon *et al.* 1997). La présence de l'ARNm du GLUT3 a été observée dans le tissu villositaire placentaire (Kayano *et al.* 1988). Chez les rongeurs, le GLUT3 (ARNm et protéine) se trouve dans le cerveau et dans la membrane plasmique faisant face à la circulation maternelle du placenta (Gould *et al.* 1993; Gerhard *et al.* 1995), alors que l'ARNm GLUT3 se retrouve uniquement dans les testicules et le placenta. Chez la chèvre, le GLUT3 (ARNm et protéine) est également retrouvé sur la surface apicale du trophoblaste placentaire (Das *et al.* 2000).

Chez les souris génétiquement diabétiques, une augmentation de l'ARNm du GLUT3 a été observée, cependant aucune modification de la concentration protéique du GLUT3 placentaire n'a été démontrée (Devascar *et al.* 1994). Toutefois, chez des rates et des souris, dont le diabète a été induit par un traitement à la STZ, les niveaux du GLUT3

(ARNm et protéine) dans le placenta ont été augmentés en comparaison aux animaux contrôles (Boileau *et al.* 1995; Ogura *et al.* 1999). Il a été suggéré que le GLUT3 (ARNm et protéine) pourrait jouer un rôle important dans la régulation du transport transplacentaire du glucose, et que son expression serait régulée par la glycémie maternelle (Boileau *et al.* 1995).

1.7.4 GLUT4

Le GLUT4 constitue le principal transporteur de glucose responsable de l'augmentation de la captation du glucose induite par l'insuline ou la contraction musculaire. Il représente plus de 90 % de la totalité des GLUTs exprimés dans les muscles squelettique et cardiaque, et dans les tissus adipeux blanc et brun (Holman *et al.* 1990; Marette *et al.* 1992). Il est présent dans des vésicules cytoplasmiques, et la stimulation de ces vésicules par l'insuline entraîne une élévation de l'expression du GLUT4 et une augmentation de l'activité de transport de glucose dans les cellules (Takata et Hirano 1997). Le placenta est un organe riche en récepteurs à l'insuline (Desoy *et al.* 1993) et contient le GLUT4 qui se trouve dans les cellules stromales intervilleuses en cohabitation avec ses récepteurs (Xing *et al.* 1998). L'expression de GLUT4 (ARNm et protéine) est plus élevée au début de la grossesse qu'à terme (Ericksson *et al.* 2005). Ces résultats sont en accord avec les données de Challier (Challier *et al.* 1986) et Urbach (Urbach *et al.* 1989) qui démontrent que le transport du glucose à la fin de la gestation n'est pas régulé par l'insuline.

Chez les rongeurs, l'hyperinsulinémie augmente l'expression du GLUT4 (Le Marchand-Brustel *et al.* 1990), tandis que l'insulinopénie chez les rats diabétiques diminue la concentration du GLUT4 (Burcelin *et al.* 1993). Cependant, chez les femmes diabétiques le niveau d'expression de l'ARNm et protéique du GLUT4 dans le placenta n'est pas modifiée par rapport aux femmes non diabétiques (Xing *et al.* 1998). Par contre une réduction de l'expression protéique du GLUT4 est observée dans le tissu adipeux des femmes diabétiques (Sinha *et al.* 1991; Garvey 1992).

1.7.5 GLUT5

Le GLUT5 est le transporteur de fructose. Il se retrouve dans l'intestin, les testicules, les reins, les muscles squelettiques et dans le tissu adipeux (Kayano *et al.* 1990; Dadidson *et al.* 1992). Ce transporteur est absent dans le placenta humain, ce qui est facilement justifiable par le fait que ce dernier ne transporte pas de fructose (Quraishi et Illsley 1999).

1.7.6 GLUT6

Chez l'humain, le GLUT6 (ARNm et protéine) (précédemment appelé GLUT9) se retrouve dans le cerveau et les leucocytes périphériques. L'ARNm du GLUT6 a également été retrouvé chez la rate (Doege *et al.* 2000b). Cependant, sa présence n'a jamais été détectée dans le placenta.

1.7.7 GLUT7

Le GLUT7 est un transporteur de glucose retrouvé dans les membranes du réticulum endoplasmique des hépatocytes et dans d'autres cellules (Waddell *et al.* 1992; Burchell *et al.* 1994).

1.7.8 GLUT8

Le GLUT8 a été identifié dans plusieurs tissus humains et murins. Il se trouve en grande concentration dans les testicules et, à un niveau moins important, dans le placenta et d'autres tissus, y compris les insulinosensibles, comme les muscles squelettiques, le cœur, le cerveau et l'intestin (Carayannopoulos *et al.* 2000; Doege *et al.* 2000a, Ibberson *et al.* 2000). Par ailleurs, le GLUT8 se trouve dans le trophoctoderme du blastocyste préimplanté chez la souris (Carayannopoulos *et al.* 2000) et dans le blastocyste préimplanté de la brebis (Augustine *et al.* 2001). Le haut niveau d'expression du GLUT8 retrouvé dans

les testicules suggère la régulation de l'expression de ce transporteur par les gonadotrophines (Doege *et al.* 2000). Dans le cerveau, l'ARNm du GLUT8 est localisé dans les neurones de l'hippocampe et dans les neurones granulaires du « gyrus dentus ». Chez des rates dont le diabète a été induit par un traitement au STZ, une augmentation des GLUT8 (ARNm et protéine) a été observée dans ces structures (Reagan *et al.* 2001).

Le GLUT8 a également été retrouvé dans le placenta de chèvres et son niveau d'expression augmente progressivement vers la fin de la gestation. Dans les modèles expérimentaux présentant une insuffisance placentaire et une RCIU, une réduction de la concentration de GLUT8 et du transport transplacentaire du glucose a été remarquée (Limesand *et al.* 2004).

1.7.9 GLUT9 et GLUT9ΔN

Le GLUT9 ainsi que son variant, le GLUT9ΔN, ont été retrouvés dans plusieurs tissus humains (Augustin *et al.* 2004), tels que le foie, le rein, le placenta et les leucocytes, tandis que le GLUT9ΔN a été retrouvé seulement dans les reins et le placenta (Phay *et al.* 2000). Le rôle spécifique de GLUT9 et GLUT9ΔN est encore inconnu.

1.7.10 GLUT10

Le GLUT10 (protéine) a été trouvé dans le foie et le placenta humain. Un niveau important de son ARNm a été détecté dans les tissus ayant une haute activité métabolique reliée au glucose, tels que le foie, le muscle et le pancréas (Dawson *et al.* 2001). Un faible niveau de son messenger est également exprimé dans le cœur, le placenta, et le rein (McVie-Wylie *et al.* 2001). Fait intéressant, le gène du GLUT10 a été localisé sur le chromosome humain 20, dans une région associée au diabète de type 2. Ce gène pourrait être un candidat pour la susceptibilité au diabète de type 2 (Dawson *et al.* 2001).

1.7.11 GLUT11

L'ARNm du GLUT11 a été identifié uniquement dans le cœur et le muscle squelettique chez l'homme et le rat, alors que la protéine a été retrouvée dans les membranes plasmiques des cellules cardiaques (Doege *et al.* 2001). Il a une séquence en acide aminé similaire à celle du GLUT5. Cependant, sa fonction spécifique est encore inconnue (Joost *et al.* 2001). Le fructose (5 mM) inhibe le transport du D-glucose par le GLUT11 dans les membranes isolées des cellules COS-7. Il a été suggéré que GLUT11 est, tout comme le GLUT5, un transporteur du fructose (Doege *et al.* 2001).

1.7.12 GLUT12

Le GLUT12 est exprimé dans le cœur, le muscle squelettique, le tissu adipeux blanc, la prostate, l'intestin, le placenta, les cellules épithéliales malignes du sein et les cellules épithéliales des glandes mammaires (Macheda *et al.* 2002, 2003; Gude *et al.* 2003). Le plus important niveau de GLUT12 est retrouvé dans les structures où le transport de glucose est lié à l'insuline. Il a été suggéré que le GLUT12, tout comme le GLUT4, serait un GLUT insulino-dépendant (Rogers *et al.* 2002). Dans le placenta humain, le GLUT12 est présent dans le syncytiotrophoblaste et dans les cellules trophoblastiques extravillieuses, au premier trimestre de la gestation; il est également retrouvé dans les cellules stromales, les muscles lisses vasculaires villositaires et les cellules endothéliales vasculaires, en fin de gestation (Gude *et al.* 2003).

1.7.13 SGLT

En 1987; un clone d'ADNc codant pour un cotransporteur Na^+ -glucose a été isolé à partir de l'intestin grêle de lapin (Hediger *et al.* 1987). Le cotransporteur SGLT1 humain, de rat, de mouton, et de porc a ensuite été cloné (Hediger *et al.* 1989; Ohta *et al.* 1990; Lee *et al.* 1994; Tarpey *et al.* 1994). Un second cotransporteur Na^+ -glucose appelé SGLT2 a

récemment été cloné (Wells *et al.* 1992; Mackenzie *et al.* 1994; Kanai *et al.* 1994). Il possède une identité de 60-76% par rapport au SGLT1. Les SGLTs utilisent l'énergie électrochimique contenue dans le gradient de Na^+ pour transporter le glucose de la lumière vers le milieu intracellulaire avec un rapport de deux molécules de glucose pour un ion de Na^+ pour le SGLT1 et le SGLT3, et avec un rapport d'une molécule de glucose pour un ion de Na^+ pour le SGLT2 (Scheepers *et al.* 2004). Le glucose accumulé à l'intérieur des cellules est ensuite transporté vers le milieu sanguin à l'aide des GLUTs situés à la membrane basolatérale (Fukumoto *et al.* 1989; Kayano *et al.* 1990). Les SGLTs humains sont constitués de 659 à 672 acides aminés et ont un poids moléculaire d'environ de 73 kDa. En se basant sur l'hydrophobicité des acides aminés, une structure membranaire avec 14 segments transmembranaires a été proposée pour les membres de cette famille (Turk et Wright 1997). Cette superfamille n'a aucune similitude structurale avec les GLUTs.

La famille de SGLTs compte à ce jour 6 isoformes. Ils se trouvent principalement dans les BBM des cellules intestinales, dans l'épithélium du tubule rénal (néphron) et en quantité moins importante dans les poumons, le cerveau et le foie (Wright 2004). La présence de l'isoforme SGLT2 (ARNm et protéine) a été démontrée dans les cellules des trophoblastes humaines (Li *et al.* 2004). De plus, cette équipe a démontré sa régulation à la baisse en état d'hyperglycémie.

1.8 CROISSANCE FŒTALE PATHOLOGIQUE

Dans plus de 60 % des cas, le poids de l'enfant à la naissance est déterminé génétiquement (Peleg *et al.* 1998). Cependant, la nutrition a un impact évident. Une inadaptation quantitative et qualitative du transfert transplacentaire des substrats énergétiques modifie la croissance fœtale ou le rapport masse grasse/masse maigre.

1.8.1 RCIU

La vie foetale représente une période critique qui influe sur le développement postnatal. L'environnement utérin généralement protecteur est souvent perturbé par des complications de la grossesse. La prééclampsie (hypertension artérielle et protéinurie au cours de la grossesse) survient dans 7 à 13% des grossesses (Fayyad et Harrington 2005), le diabète gestationnel dans 3-5% (King 1998), et l'accouchement avant terme dans 7% (Smith *et al.* 2005). De plus, environ 4 % des nouveau-nés sont petits pour leur âge gestationnel. La RCIU est un problème de santé publique important qui représente la deuxième cause de mortalité infantile en importance dans les pays développés (Monk et Moore 2004). La RCIU se définit comme une biométrie de trophicité foetale inférieure au 10^{ème} percentile et il s'agit donc d'une situation fréquente (Wollman 1993; Leperco et Matieu-Caputo 1998). La RCIU augmente le risque de telles pathologies de la grossesse comme l'asphyxie foetale, l'encéphalopathie néonatale et l'hypothermie. Il est également souvent une cause d'invalidité irréversible (paralysie cérébrale et troubles neurologiques, développementales et cognitifs) (Barcer *et al.* 1993; Houang *et al.* 1999). De plus, il a été démontré que la RCIU prédispose à d'importantes maladies qui se manifestent à l'âge adulte, telles que l'hypertension, le syndrome métabolique associé à l'obésité, l'accident vasculaire cérébral, les coronaropathies et le diabète de type 2, accroissant ainsi l'importance de cette pathologie au niveau de la santé publique (Greenwood et Bell 2003).

La RCIU est secondaire dans environ 40% des cas, et idiopathique dans environ 60% des cas (Murthi *et al.* 2005). Certaines de ces dernières formes sont familiales. Les causes de la RCIU les plus souvent observées sont :

- les causes maternelles : hypertension gravidique ou syndromes vasculo-rénaux, tabac, alcool et maladies maternelles chroniques ;
- les causes placentaires : petit placenta, insertion *prævia* et troubles ischémiques placentaires ;
- les causes fœtales : infection virale (cytomégalovirus), aberration chromosomique et grossesse multiple.

Parmi toutes ces étiologies, la plus fréquente est l'hypertension artérielle gravidique retrouvée dans environ 30 % des cas. Dans cette étiologie, les mécanismes de l'altération de la croissance intra-utérine passent par une diminution du débit utéro-placentaire (Hackett *et al.* 1992; Somerset *et al.* 1998). Une RCIU peut résulter d'une réduction du développement villositaire, des apports maternels en oxygène ou en nutriments (Kanaka-Gantenbein *et al.* 2003). Dans un premier temps la carence d'apport en oxygène ne se traduit ni par une souffrance fœtoplacentaire, ni par une apoptose tissulaire augmentée. Si cette privation se poursuit, le fœtus s'adapte en redistribuant son flux sanguin vers ses organes vitaux pour les protéger. Quand cette adaptation est dépassée, le développement d'une RCIU est alors observée accompagnée d'une hypoxie, puis d'une acidose (diminution de la PvO_2 ; diminution du pH; augmentation de la PCO_2 et des lactates) délétère pour les tissus fœtaux, notamment les tissus nerveux (Glaser *et al.* 1999; Pardi *et al.* 2002).

Lors d'une RCIU, une augmentation du gradient materno-fœtal menant à une hypoglycémie fœtale sans hyperinsulinisme est observée. Le transfert placentaire du glucose serait altéré via une modification de l'expression des GLUT, ou via une modification de leur répartition entre la membrane syncytiale et la membrane basale. Il y aurait aussi une inadaptation fœtale, mais les mécanismes qui régulent la glycémie sont encore mal connus et varient avec la maturation du fœtus au cours de la grossesse (Jansson *et al.* 1993; Glaser *et al.* 1999; Pardi *et al.* 2002). Le jeûn maternel prolongé induit une diminution de l'apport en glucose au fœtus. Il en résulte une diminution de la sécrétion d'insuline fœtale et, en fin de grossesse, une mobilisation du glucagon hépatique fœtal. À l'inverse, en cas de diabète maternel, l'hyperglycémie maternelle induit alors une hyperglycémie fœtale et un hyperinsulinisme responsable de la macrosomie fœtale. L'hyperglycémie maternelle entraîne une diminution de la pGH sérique. Dans la RCIU, une diminution parallèle de la concentration de la pGH et de l'IGF-1 maternels est observée. Leur transfert s'effectue au niveau de la barrière syncytiale par transport actif contre le gradient fœto-maternel. Il met en jeu une pompe Na^+-K^+ dépendante nécessitant de l'oxygène et de l'ATP couplée à différents transporteurs selon la nature de l'acide aminé (systèmes A, L...). Ainsi, le transfert materno-fœtal du glucose s'effectuant selon un

gradient de concentration, il s'amointrit lorsque celui-ci diminue du fait d'une hypoglycémie maternelle (Jansson et Powell 2006). Une carence modérée en acides gras essentiels et en certains acides aminés peut également provoquer une RCIU, ce qui n'est pas le cas lors d'une restriction protéique (Norberg *et al.* 1998; Jansson *et al.* 1998; Cetin *et al.* 2002). Dans le cas des acides aminés lorsqu'une diminution du gradient fœto-maternel est observée, il en résulte une augmentation globale de la concentration en acides aminés circulant au niveau maternel et une diminution de la concentration en acides aminés circulant au niveau fœtal (Battaglia et Regnault 2001; Pardi *et al.* 2002). Ceci se traduirait par la mobilisation des réserves maternelles, l'augmentation des besoins du fœtus, et une altération du transfert global des acides aminés. Les restrictions au cours de la seconde moitié de la grossesse ont plus d'impact sur la croissance fœtale.

Dans la RCIU, le transfert transplacentaire des lipides n'est globalement pas altéré, sauf pour les AGL (Pardi *et al.* 2002; Haggarty 2002). Cependant, l'utilisation de ces lipides semble alors déviée vers le métabolisme oxydatif pour subvenir aux besoins énergétiques du fœtus et du placenta, et cela aux dépens de leur croissance. La mobilisation des lipides maternels semble impliquer la leptine maternelle qui est à la fois d'origine adipocytaire et placentaire (Sagawa *et al.* 2003). Cependant, aucune relation n'est observée entre les concentrations sériques de leptine maternelle et la croissance fœtale. En plus les niveaux de leptine ne semblent pas modifiés en présence d'une RCIU.

1.8.2 ANOMALIES PLACENTAIRES ET RCIU

Le rôle du placenta est essentiel dans le contrôle de la nutrition pour mener à bien la croissance du fœtus. Les anomalies placentaires sont significativement très augmentées en présence d'une RCIU, sans qu'il soit possible de systématiser clairement leur rôle dans la genèse de l'hypotrophie fœtale, ni de déterminer une relation de causalité stricte avec la RCIU.

1.8.2.1 Anomalies placentaires morphologiques

La fréquence d'anomalies placentaires morphologiques en présence d'une RCIU est élevée, soit de 70 à 90% selon les études (vs 17% dans les grossesses normales) (Fondacci *et al.* 1992; Ferrazzi *et al.* 1999). Dans 45% des placentas lors d'une RCIU, la configuration placentaire est anormale, ce qui suggère une altération de l'implantation de l'œuf, soit mal localisée, superficielle ou trop profonde. La croissance placentaire est habituellement corrélée à la croissance fœtale et elle est donc souvent diminuée en cas d'une RCIU (Bortolus *et al.* 1998). Cependant, il a été démontré que le placenta pourrait perdre de 30-40% de ses villosités sans effet sur la croissance fœtale.

Les placentas de RCIU présentent une baisse de leur taux global de prolifération cellulaire (Izutsu *et al.* 1999), mais sans modification de l'index de prolifération au troisième trimestre (3.7% vs 3.1%) (Smith *et al.* 1998). L'expression placentaire de gènes régulant la synthèse de l'ADN et des protéines («growth arrest-specific» et «growth arrest-and DNA damage-inducible») est diminuée *in vitro* en conditions d'hypoxie (Rees *et al.* 1999). Le phénomène d'apoptose, dont la régulation est complexe (génétique : gènes bax et bcl-2 ; environnementale : hypoxie ; cytokines (TNF α , EGF...)) serait augmenté dans les placentas d'une RCIU (Axt *et al.* 1999; Léa *et al.* 1999; Murthi *et al.* 2005). Les lésions vasculaires (hématome décidual basal, infarctus placentaire, nécrose villositaire ischémique avec dépôts de fibrine) sont observées dans 57% des placentas de RCIU (Gray *et al.* 1999; Sheppard *et al.* 1999; Shu *et al.* 2000).

1.8.2.2 Le métabolisme placentaire

L'activité enzymatique placentaire, qui intervient aussi bien sur les échanges foeto-maternels que sur les synthèses trophoblastiques, est diversement modifiée selon les contextes. Lors d'une RCIU idiopathique le facteur dégradant l'ADP, le cytochrome C oxydase et le glucose - 6 phosphatase sont inchangés, par contre ils sont diminués en cas de pré-éclampsie associée (Matsubara *et al.* 2000).

1.8.2.3 La production d'hormones

En présence d'une RCIU sévère, une baisse des œstrogènes urinaires maternels est observée, ainsi que l'hPL et la pGH, dosées dans la circulation maternelle sont diminués (Mirlesse *et al.* 1993; Mc Intyre *et al.* 2000). De plus, la baisse conjointe des taux d'IGF et l'élévation des IGF-BP suggèrent une modification de la biodisponibilité des IGFs dont les récepteurs placentaires ne sont pas diminués (Holmes *et al.* 1999).

1.8.2.4 Anomalies fonctionnelles

De multiples anomalies fonctionnelles placentaires ont été décrites en association avec la RCIU, dont le caractère primaire ou secondaire n'est pas clairement établi.

Le transport membranaire. Dans les placentas de RCIU, l'activité de transport est diversement modifiée: les études *in vitro* ne montrent pas de modification de la capacité de transfert de l'eau, d'urée, du mannitol (Powell *et al.* 1999). En revanche, le transfert d'acides aminés, tels que la leucine, la lysine, la taurine, est diminué (Jansson *et al.* 1998; Norberg *et al.* 1998). Les capacités placentaires du transport du glucose ne seraient pas modifiées, mais la consommation placentaire en est augmentée en cas de RCIU associée à une prématurité (Challis *et al.* 2000; Isley *et al.* 2000). De plus, l'hypothyroïdisme maternel et la baisse de l'EGF circulante (chez la souris) sont accompagnées d'une baisse du GLUT1 (Pickard *et al.* 1999). Finalement, l'hypoxie mais aussi diverses substances, comme l'éthanol, induisent *in vitro* une diminution du transport des acides aminés, du glucose et du zinc.

CHAPITRE II

ARTICLE

Avant-propos

“Differential expression of glucose transporters in rabbit placenta: effet of hypercholesterolemia in dams” par Olha Kevorkova, Lucie Simoneau, Julie Lafond.

Dans une étude précédente (Montoudis *et al.* 1999), nous avons démontré que chez les lapines, une DEC induit une réduction du poids des rejets à la naissance. Par la présente étude, nous voulons déterminer si le métabolisme et le transfert placentaire du glucose, un nutriment essentiel au développement fœtal sont influencés par les modifications physiologiques provoquées par la DEC chez la lapine durant la gestation. Pour ce faire, des dosages du glucose et d’insuline sériques ont été effectués chez les lapines gestantes. Des essais de RT-PCR en temps réel ont évalué l’expression d’ARN des GLUT placentaires. Les niveaux protéiques de GLUTs et de SGLT1 placentaires ont été mesurés à partir des extraits de protéines totales, ainsi que dans des fractions cytosolique et de la membrane plasmique, par l’immunobuvardage de type Western. À la lumière de nos résultats, un faible poids des rejets à la naissance peut être expliqué par une réduction du transfert du glucose via la réduction de l’expression protéique de SGLT1 dans des extraits de protéines totales et la diminution de l’expression de GLUT1 dans la fraction de la membrane plasmique placentaire.

J’ai directement participé à cette recherche. J’ai fait une revue de la littérature sur ce sujet et j’ai développé mon hypothèse de travail. J’ai ainsi effectué une élaboration des techniques et une réalisation de toutes les manipulations. J’ai également rédigé l’article scientifique résultant de ces travaux.

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF GLUCOSE TRANSPORTERS IN RABBIT PLACENTA: EFFECT OF HYPERCHOLESTEROLEMIA IN DAMS

Short title: Glucose transporters in rabbit placenta

Summary sentence: Maternal hypercholesterolemia influence GLUTs translocation in placenta

Olha Kevorkova^{1,2}, Lucie Simoneau^{1,2} and Julie Lafond^{1,2,3}

¹ Laboratoire de Physiologie Materno-Fœtale, ² Centre de recherche BioMed, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada, H3C 3P8.

³**Corresponding author:**

Julie Lafond, Ph.D.

Laboratoire de Physiologie Materno-Fœtale

Université du Québec à Montréal,

Département des sciences biologiques

C.P. 8888, Succ centre-ville, Montréal, Canada, H3C 3P8.

Tél: 514-987-3000 ext: 7857

Fax: 514-987-4647

E-mail: lafond.julie@uqam.ca

Manuscript submitted to Biology of Reproduction (May 2006)

ABSTRACT

Low birth weight is observed in rabbit offspring when maternal hypercholesterolemia is induced during gestation, but the related etiology is still unknown. Glucose is one of the most important substances during fetal development and defect in the glucose supply to fetus was related to pathophysiological mechanism in intrauterine growth restriction (IUGR). Thus the aim of this work was to evaluate the impact of maternal hypercholesterolemia during rabbit gestation on the glucose metabolism and on the routing of glucose transporters (GLUT and SGLT) in placenta. In this study, maternal and offspring serum levels of glucose and insulin were evaluated for control and hypercholesterolemic groups, and the mRNA and protein expressions of placental GLUTs were quantified by real time RT-PCR and Western immunoblot, respectively. Our data demonstrate that maternal hypercholesterolemia during gestation: 1) induces offspring hypoglycemia; 2) does not modify the mRNA and protein expressions of GLUT1 and GLUT4 in total placental extract; 3) down-regulates the placental SGLT1 protein expression; 4) impairs the translocation of GLUT1 but not of GLUT4 from cytoplasmatic pool to the cell membrane surface. Then, we assume that reduction of offspring birth weight in presence of maternal hypercholesterolemia may be related to the offspring's hypoglycemia and the reduction of the cell surface expression of placental GLUT1.

INTRODUCTION

Glucose is the primary source of energy for metabolism and development for the fetus and placental tissue [1]. The fetal consumption of glucose increases rapidly toward term due to the almost 20-fold increase in fetal weight during the second half of pregnancy [2]. *In utero*, the human fetal plasma glucose concentration correlates with the maternal one [3, 4], and maternal basal plasma glucose concentration tends to decrease with the progression of pregnancy even in the presence of a twofold increase of insulin level [5, 6]. In spite of the presence of insulin receptor in placenta [7, 8], the effects of insulin, the major regulator of glucose level, have still not been clarified in the human placenta. Many of investigators [9-11] have postulated that the placenta is insulin resistant, while others have shown that glucose transport in human placenta can be modulated by insulin using brush-border membrane vesicles and cytotrophoblast cells [12-14]. Since insulin receptors are preferentially localized at the fetal side of the human term placenta, it has been suggested that fetal insulin can play a major role in regulating insulin-dependent processes.

Since fetus is not capable of producing appreciable amounts of glucose until late in gestation, it is critically dependent of the net transfer of glucose across the placenta [15]. The high fetal demand for glucose, especially during the third trimester necessitates the presence of rapid, high-volume system for maternal-fetal glucose transfer. This is regulated by several factors: glucose supply, placental glucose metabolism and placental glucose transporter density [16]. Placental glucose transport is a stereoscopic, saturable and carrier-mediated process of facilitated diffusion [10], involving a family of membrane-spanning glycoproteins, the glucose transporters (GLUT) [17] and Na⁺-dependent active glucose transporter (SGLT) [18, 19]. At least 12 different GLUTs and 6 SGLTs isoforms have been characterized in mammalian tissues [20, 21]. Among them, 5 high-affinity GLUTs isoforms (GLUT1, GLUT3, GLUT4, GLUT8 and GLUT12) and SGLT2 have been identified in human and animal placentas for different period during gestation [19, 22-26]. GLUT1 represents the major glucose transporter in human placenta that controls glucose transport from the maternal to the fetal compartment under physiological conditions and their

expression is maximal at delivery [27]. At term, GLUT3 is localized to the endothelial cells lining the fetal capillaries and is thought to be important for regulating glucose levels between these cells and fetal blood [24]. In rodent and sheep, placental GLUT3 mRNA and protein levels increase as gestation advances while GLUT1 abundance is unaffected or decreased toward term [22, 28]. GLUT4, an insulin-responsive glucose transporter, is present in placental stromal cells and may be important for transporting glucose and conversion to glycogen in these cells in response to insulin in the fetal circulation [29]. GLUT8 has been found to be expressed in human term placenta, but may be less important in early pregnancy [30]. Also, immunohistochemistry has shown that GLUT12 staining was virtually completely absent from the syncytiotrophoblast from term placenta and was found predominantly in villous vessel smooth muscle cells and villous stromal cells [31]. While GLUT1 may be important for maternal-fetal glucose transport throughout pregnancy, GLUTs 3, 4 and 12 may only be required for this function in first trimester.

Although it is known that glucose is the primary substrate for fetal oxidative metabolism, the regulatory mechanisms and function of glucose transporters in placenta are still not fully understood.

Fetal metabolism, and consequently fetal growth, directly depends on an adequate supply of oxygen and essential nutrients derived from the maternal circulation. Macrosomia and selective organomegaly are present in excess of glucose in presence of diabetic pregnancy, both insulin-dependent and gestational [32]. In the opposite case, maternal malnutrition during pregnancy cause the intrauterine-grown restriction (IUGR) [33-35]. The IUGR is a frequently occurring and serious complication of pregnancy, this etiology complication is multifactorial, but a reduced transfer of nutriment and oxygen to the fetus is likely final common pathway in many cases. Measurements of fetal plasma glucose have consistently shown a decreased concentration of glucose in IUGR fetuses [36, 37]. A decreased expression of glucose transporters has been suggested as one possible mechanism by which fetal plasma glucose concentration is reduced. However, studies investigating placental transporter expression and activity in IUGR are limited and their conclusions are often discordant [30, 34, 38-40]. In animals, during the second half of

gestation, placental GLUT abundance is altered in an isoform-specific manner by glucocorticoid administration (rat) [41], thyroidectomy (rat) [39] and by variations in nutrient availability induced by fasting, restriction of dietary intake (sheep, rat) [34, 35], diabetes (rat, mice, sheep) [42-44] and direct maternal infusions of glucose (sheep) [45]. Both increases and decreases in GLUT gene expression and protein abundance are observed in placenta in response to these manipulations depending on their timing and duration. Taken together, these observations indicate that placental GLUT protein abundance is responsive to environmental conditions and/or the concomitant changes in fetal growth that these conditions induce.

In the previous study, we have reported that a 0.2% enriched-cholesterol diet (ECD) during rabbit gestation induced maternal and fetal hypercholesterolemia and consequently significantly reduced offspring birth weight by 15,5% compared to control diet [46]. In addition, this reduction of offspring birth weight was not related to the decrease of the placental transfer of linoleic acid or leucine into fetal plasma [47]. In the present study, we hypothesized that the reduction of offspring birth weight could be related to a modification of glucose metabolism and of placental glucose exchange. We also hypothesized that hypercholesterolemia changes the distribution pattern of GLUTs between the plasma membrane and intracellular sites in rabbit placental tissue. Thus, we evaluated fetal and maternal glucose and insulin levels and the expression of placental GLUT1, GLUT3, GLUT4 and SGLT1 in order to evaluate the impact of hypercholesterolemia on maternal and fetal glucose metabolism and placental glucose transfer.

MATERIALS AND METHODS

Experimental animals

New Zealand's adults white virgin female rabbits weighting 3–4 kg were purchased from Charles River (Saint-Constant, Canada). Those rabbits were treated according to the criteria for the care and use of laboratory animals with the recommendation of the Canadian

Council on Animal Care (CCAC). During the two weeks of acclimatization period, all rabbits were fed with 150 g per day of a standard rabbit's Chow diet (SD) (Ralston Purina, Drummondville, Canada) and water *ad libitum*. To conduct this study, female rabbits were divided in two groups: 1) the control group consisted of rabbits fed with 150 g/day with the SD throughout their gestation (30 days), this control group's follow-up began on the mating day (day 0 up to day 30) and 2) the ECD group fed with 150 g/day with SD enriched with 0.2% (w/w) cholesterol seven days before mating and their follow-up began with the administration of the diet throughout gestation.

Experimental methods

Maternal blood was collected by an ear artery puncture, following the subcutaneous injection of acepromazine maleate (Atravet) (0.6 mg/Kg), before mating and at the end of pregnancy. An additional blood sampling was done on rabbits determined to be part of the ECD group prior the beginning of the diet. The last blood collection was done at term (days 30) by an intracardiac puncture, following a subcutaneous injection of Atravet (0.6 mg/Kg) and an intramuscular injection of Ketamin chlorhydrate (40 mg/Kg) and of Xylazin (5 mg/Kg). Thereafter, the dams were euthanized by a lethal intracardiac injection of Euthanyl (0.5 ml/Kg), and then their abdomen was opened. Both horns of the uterus were excised and the offspring were removed from the uterus with their respective intact placenta. Placentas were immediately frozen in liquid nitrogen and kept at -80 °C until used. Blood was obtained from the offspring by intracardiac puncture and they were killed by an intracardiac injection of Euthanyl (0.5 ml/Kg). Blood samples were centrifuged for 5 min at 12 000 X g and serum samples were kept at -80 °C until analysis.

Glucose and insulin analysis in rabbit serum

The glucose and the insulin concentration were measured in serum of dams and offspring of both control and ECD groups. The glucose assay was performed using a QuantiChrom Glucose Assay Kit (BioAssay System, Hayward, CA) according to the manufacturer's instruction and the optical density was read at 640 nm. The insulin level was assayed using

Mercodia Ultrasensitive Insulin ELISA kit (Mercodia AB, Uppsala, Sweden) with recombinant human insulin as a standard. The optical density was read at 450 nm.

RNA extraction and real-time RT-PCR experiments

Total RNA was isolated from 100 mg placental tissue using the RNeasy Lipid Tissue Mini Kit according to the manufacturer's instructions (Qiagen, Mississauga, Canada). The cDNA synthesis was carried out using Omniscript RT kit (Qiagen) with 2 µg of total RNA at 37 °C for 1 h in a 20 µl final volume. Oligonucleotide primers were synthesized by Qiagen. Each amplification reaction (12.5 µl) was performed in presence of 0.2 µM dNTP, 0.5 µM of each primer, 2.5 U Taq DNA polymerase (Taq PCR core kit, Qiagen) and 1/12.5 of the cDNA synthesis reaction. Fragments of cDNA were amplified using the followings primers GLUT1 sens (S) 5'-TGCCCTGCATGTCCTATCTGA-'3 and GLUT1 antisens (AS) 5'-TGAAATTCGAGGTCCAGTTGG-'3, GLUT3 (S) 5'-CGTCATCTTTGCCGTCTTC-'3 and GLUT3 (AS) 5'-ACATGGGTGGTGGTCTCAA-'3, GLUT4 (S) 5'-TGGTCTCGGTGTTCTTGGTG-'3 and GLUT4 (AS) 5'-CTCAAAGAACGCCACAAAGC-'3. The annealing temperature was 58°C for GLUT1 and GLUT3, and 60°C for GLUT4 (40 cycles). After PCR 10 µl of each sample was migrated in 1.5% agarose gels and visualized by ethidium bromide staining. Real-time RT-PCR experiments were performed using the LightCycler System (RocheBiochemicals, Laval, Canada) in 10µl reaction containing 1µl of 1x SYBR Green according to the manufacturer's instructions (Takara Bio Inc, Otsu, Japon). HPRT-1 was used as reference gene for normalization. The PCR cycling regimen was 5 min at 95 °C, 40 iterations of a three-step temperature series (5 s at 95 °C, 20 s at the optimal annealing temperature for each pair of primers and 15 s at 72 °C). Amplification of the HPRT-1 cDNA was used to control the integrity of the cDNA and as internal control to quantify the expression of a given gene in real-time PCRs. For quantification studies, the comparative method or $\Delta\Delta C_T$ method of relative quantification was used. To compare the amplification efficiency of 2 target genes (A and B), a dilution series for both genes from a reference cDNA were prepared and the C_T values of target A are subtracted from the C_T values of target B. The

difference in C_T values was then plotted against the logarithm of the dilution series. The slope of the resulting straight line was always <0.1 . The relative quantification of the mRNA level of each gene was evaluated by comparison with the mRNA expression of HPRT-1 using RelQuant 1.01 software.

Protein extraction

Placental tissue samples (200 mg) were homogenized using a Polytron Tissue homogeniser in 1 ml ice-cold extraction buffer (125 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 mM CaCl_2 , 1.4% (v/v) Triton X-100, 2 $\mu\text{g/mL}$ aprotinin 1 $\mu\text{g/mL}$ pepstatin, 4 μM leupeptin 1 mM PMSF). Homogenates were kept on ice for 30 min, centrifuged at 10,000 g for 25 min at 4 °C and the supernatants were collected and stored at -80 °C until used.

Tissue fractionation

The fractionation of placental plasma membrane and cytosolic proteins was carried out from 500mg of placental tissue using the Plasma Membrane Protein Extraction Kit according to the instructions of the manufacturer (BioVision, Mountain View, CA). The protein concentration was determined using BCA kit (Pierce, Rockford, IL). GLUT1 and GLUT4, in both the plasma membrane and cytosol fractions, were measured by Western blotting.

Western blot analysis

Total, plasma membrane and cytosolic proteins were solubilized in sample buffer (4% SDS, 30mM dithiotheitol, 0.25 M sucrose, 0.01 M EDTA-Na_2 and 0.075% bromophenol bleu), resolved using a 10% SDS-PAGE and electroblotted into PVDF membranes (Millipore, Cambridge, Canada) at 1.7 mA/cm². Thereafter, membranes were incubated in blocking buffer (TBS-T (Tris-buffered saline (TBS) supplemented with 0.1% Tween-20) containing 5% skim milk) for 1 h at room temperature, immunoblotted overnight at 4°C with the primary antibody GLUT1 (1:500); GLUT4 (1:1000) or SGLT-1 (1:300) (Alpha Diagnostic International, San-Antonio, Tx) diluted with the blocking buffer.

Membranes were washed 3 times in TBS-T and the probes were incubated with horseradish peroxidase-conjugated secondary anti-rabbit antibody IgG (1:2500; Chemicon International Inc, Temecula, CA) in blocking buffer for 1 h at room temperature. Blots were then washed 3 times with TBS-T, the detection was performed using the BM Chemiluminescence system (Roche Biochemicals) and visualized by autoradiography (Amersham Bioscience, Buckinghamshire, UK).

The loading of placental proteins was monitored by the detection of the glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPDH) protein (for total and cytosolic proteins) and of the folate binding protein (FBP) (for plasma membrane fraction). The blotting membrane were stripped and reblotted with a GAPDH or FBP antibodies. Briefly, nitrocellulose membranes were incubated in a stripping buffer (100 mM 2-mercaptoethanol, 2% SDS, 62.5 mM Tris-HCl, (pH 6.7)) for 10 min at room temperature. Thereafter, membranes were washed in washing buffer (1M Na₂HPO₄ 1M NaH₂PO₄, 9g/L NaCl, (pH 7.2)) for 5 min, blocked in blocking buffer for 1 h at room temperature, reblotted with the primary monoclonal anti-GAPDH (1:2500; Chemicon International Inc) or anti-FBP (1:5000; Abcam Inc, Cambridge, MA) 1h at room temperature. Membranes were washed 3X TBS-T and probe were incubated with secondary anti-mouse peroxidase-linked IgG (1:2500; Chemicon International Inc) or anti-goat peroxidase-linked IgG (1:5000; Chemicon International Inc) in blocking buffer for 1 h at room temperature. Blots were then washed 3X with TBS-T, the detection was performed using the BM Chemiluminescence system (Roche Biochemicals) and visualized by autoradiography (Amersham Biosciences). The band intensity was analyzed by Image analysis software (Quantity One Quantitation software, Windows/Macintosh).

Statistical analysis

Results were reported as mean \pm SEM. The concentration of glucose, insulin, relative mRNA and protein expression levels were evaluated using the unpaired Student *t*-test. A P-value <0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Concentration of glucose in dams and offspring serum

The impact of maternal cholesterol level during pregnancy was studied on maternal and offspring's serum glucose concentrations. The concentration of serum glucose was determined in dams for control group before mating (day 0) and for ECD group before the beginning of treatment (day -7). Our results demonstrated no significant differences between control and treated groups of rabbits before gestation and at term (Fig. 1A). In addition, the glycemia was not significantly different between both control and ECD dam's groups. In contrast, the glucose concentrations in offspring were significantly decreased compared to dam's concentration (Fig. 1B). Moreover, glycemia of offspring from the ECD dams is significantly lower compared to offspring from the control group.

Serum insulin level in dams and offspring

The serum insulin level was also evaluated for dams and offspring for both control and ECD groups. Our data demonstrated that the serum insulin level was significantly decreased in both groups of dams at term (day 30) compared to before gestation (Fig. 2A). The hypercholesterolemia during gestation did not affect the insulin metabolism in hypercholesterolemic mothers. In addition, the insulinemia in offspring from both control and ECD groups was not modified (Fig. 2B).

mRNA expression of placental GLUTs

The analysis of GLUTs mRNA expression was necessary to determine whether the ECD modified their expression level in placenta. Our RT-PCR study demonstrated the presence of the GLUT1, GLUT3 and GLUT4 mRNA in rabbit placentas at term (Fig. 3A). In order to quantitatively evaluate the specific expression of glucose transporter in placentas for both groups, real-time RT-PCR was used. Our results show that no significant differences were observed for GLUTs mRNA expressions in placentas from the control and the ECD groups (Fig. 3B).

Western blot analyses

Since mRNA expression level is not necessarily correlated with proteins levels, we performed Western blot experiments in placentas from control and ECD groups. For GLUT1 and GLUT4 proteins, the expected size of the band was of 55kDa (Fig. 4A, 5A), while that of SGLT-1 was of 75kDa (Fig.6A). The immunoblot analysis of GLUTs expression in placental total protein extract shows that neither GLUT1 nor GLUT4 expression levels were affected by maternal hypercholesterolemia (Fig. 4B, 5B). In contrast, in the placental total protein extract obtained from hypercholesterolemic dams the expression level of SGLT-1 was significantly lower ($P < 0.001$) than in those from control dams (Fig. 6B).

GLUT translocation study

Since it is known that GLUT protein expression at the cell membrane surface is regulated by lipid environment, we investigated whether maternal hypercholesterolemia modified the routing of GLUT to the plasma membrane of placenta. Thus, for this study, we have determined the expression level of GLUT1 in plasma membrane (Fig. 7A) and cytosolic fraction (Fig. 8A) isolated from placentas of both groups (control and under ECD). The FBP was used as housekeeping gene for plasma membrane proteins and it shows a single band at approximately 60 kDa as described by Malm et al [48]. Our results demonstrated that in cytosolic fraction a significant increase of GLUT1 expression protein in placentas was observed for the hypercholesterolemic group (under ECD) compared to control group (Fig.7B). In contrast, GLUT1 obtained from placental plasma membrane fraction from ECD group was significantly decreased compared to the control group (Fig. 8B). The content of GLUT4 protein in these placental fractions was similar in both groups. Then, no difference was observed for the GLUT4 from cytosolic (Fig. 9B) and plasma membrane fractions (Fig. 10B) isolated from placentas of both groups (control and under ECD).

DISCUSSION

This is the first study to report the influence of hypercholesterolemia during gestation regarding the characterization of the placental glucose transporter and glucose and the insulin metabolism in rabbit. The present paper shows for the first time the presence of SGLT-1 in the placenta of rabbit and its down-regulation in presence of hypercholesterolemia. In addition, we have demonstrated that the maternal hypercholesterolemia affects the routing of GLUTs to the plasma membrane of placenta.

Our previous study [46] conducted in our laboratory showed that maternal hypercholesterolemia induced by a maternal diet (ECD) provoked an important increase of serum cholesterol and triglyceride level in these offspring and an associated reduction of the their birth weight. Some others teams also reported that small for gestational age (SGA) newborns are often hypertriglyceridemic and hypercholesterolemic compared with those of normal size [49, 50].

It is well established that glucose is a vital substrate for fetal development and growth, and it was demonstrated that its placental transfer increases linearly with maternal glycemia and that it is mainly dependent on the concentration of glucose in the maternal circulation [51]. Many studies reported that IUGR human fetuses are hypoglycemic and hypoinsulinemic *in utero* compared to normal birth weight fetuses and that alteration of the fetal availability for the glucose could explain the reduction of the birth weight [37, 52, 53]. In our study, similar results were obtained showing hypoglycemia in low birth weight offspring compared to control ones. In addition, a direct correlation between maternal and offspring's glucose concentration was observed in the control group of rabbits, while no similar findings were observed in presence of hypercholesterolemia.

Alteration in the maternal or fetal plasma glucose concentration changes the maternal-fetal glucose concentration gradient, resulting in an altered rate of glucose transfer [16]. Also, another important factor that must be considered regarding the regulation of the fetal glucose level is the placental consumption [54]. Many studies were conducted on this subject according normal and IUGR pregnancies, and many conflicting data were obtained. Challis et al [55], using classical techniques involving *in vitro* perfusion of intact

cotyledons obtained from six severely growth restricted preterm babies showed a two-fold increase in placental glucose consumption in IUGR compared to preterm pregnancy with normal growth of the fetus. In contrast, in a preliminary study of Malek [56], a decrease of the glucose consumption has been observed in placental villous tissue obtained from growth restricted preterm babies compared to normal growth preterm babies. However, another study conducted by Magnusson [57] have found similar glucose consumption in villous tissue obtained from IUGR pregnancies and appropriate gestational age babies. Another study also found that the maternal-fetal glucose concentration gradient was increased in relation to the clinical severity of IUGR, possibly representing an adaptation to maintain glucose uptake across the placenta [37]. Thus, the question turning on if whether or not the IUGR placenta has altered glucose consumption is of major importance for the understanding of the pathophysiology of IUGR. The absence of correlation between maternal and offspring glucose level observed in the present study could be due to an increase of the placental glucose consumption in ECD dams, and could contribute to the greater difference in glucose concentration between the maternal and offspring's circulation in the ECD group.

It is well established that the circulating glucose concentration is a primary determinant for fetal insulin secretion [57]. Then, since the insulin is the most important stimulating growth hormone during the fetal life, the fetal hypoinsulinemia may be a primary mechanism causing a restricted fetal growth in presence of a pregnancy complication. In this paper, we have evaluated the possibility that the disturbance of the fetal glucose metabolism and the diminution of offspring weight are related to a modification of the fetal insulin level. Plasma insulin and IGF-1 levels are decreased in growth-retarded fetal rats [58, 59]. Moreover, the glucose transport was diminished in lung but not in muscle and brain of SGA rats in responses to physiological and superphysiological concentrations of insulin and IGF-I [60]. In other study, small babies are more likely to be hypoinsulinemic [49, 52] than normal size babies. The hypothesis that pancreatic cell dysfunction may be involved in the etiology of hypoinsulinaemia in these babies is supported by necropsy studies of pancreatic tissue in SGA babies [61] and animal

studies [62, 63]. However, Spencer et al. [53] reported similar value for insulin, proinsulin and Des 31, 32 proinsulin in cord blood of SGA babies. Similarly, we were unable to show significant differences in insulin level in control and ECD offspring. Moreover, the insulinemia was not different for both control and ECD dams. Usually, during normal human and rodent pregnancy, the insulin level increases during the last third of gestation [5, 64, 65]. The question of whether insulin regulates placental glucose uptake and transport has been addressed quite extensively and remains controversial. Most studies [9, 66, 67], but not all [12], show that insulin does not affect placental glucose transport at term. In our study, the absence of difference in maternal insulinemia for both control and ECD groups confirms the hypothesis that placental glucose transport and metabolism are not sensitive to maternal plasma insulin level.

Proper fetal development is dependent on sufficient oxygen and essential nutrient supply to the fetus. A variety of maternal and uteroplacental factors could limit the fetal growth. Maternal diet, caloric intake and metabolic function have an important role to play in supplying nutrients to the fetus. In addition, alterations in maternal metabolism in response to hormonal signals ensure a redirection of required nutrients to the placenta and mammary gland [68]. Since substrate transport, including glucose, is directed from the maternal to the fetal circulation under physiological conditions, the placenta's ability to facilitate this transfer is of critical importance for the development of a healthy fetus [69]. Thus, despite the importance of a high volume flow of glucose for fetal growth and development, there is little data on the expression and activity of glucose transporter in pathological condition. GLUT1 is the primary transporter mediating facilitated glucose transfer across the placental barrier in the second half of pregnancy and glucose movement across the basal plasma membrane appears to be the rate-limiting step. Our studies demonstrate that the weight reduction in ECD offspring is not associated with an alteration in the gene expressions of placental GLUT1, GLUT3 and GLUT4. However, it has been previously shown that IUGR caused by maternal epidermal growth factor deficiency results in a reduced mRNA expression of GLUT3, with no effect in GLUT1 mRNA expression in placenta [40]. Moreover, decreased levels of GLUT8 mRNA and protein in placental tissue

have been observed in an ovine IUGR model [30]. Placental GLUT3 gene expression was also reduced under the conditions of food restriction during the last week of gestation in the rats [70]. However, the quantification of the GLUT3 mRNA expression provides little functional information about protein expression, especially in the placenta where tissue of both maternal and fetal origin is present. In addition, the relationship between GLUT3 mRNA and protein expression appears to be inconsistent, implying that posttranscriptional regulation occurs [71]. As specific antibody against rabbit GLUT3 is not commercially available, it was not possible to measure its abundance in our placental extract. Therefore, we investigated the expression level of GLUT1 and GLUT4 protein in the placental tissues. The protein expression level of both GLUT1 and GLUT4 in placentas of the growth restricted offspring was not significantly different from those of the control group using total protein extract. Similar results regarding GLUT1 protein expression and activity were reported in human IUGR placenta [38] and in rat placenta in hypothyroxinaemic pregnancy [39].

A key mechanism in the regulation of glucose uptake involves the translocation of transporters from intracellular pool to the plasma membrane through vesicular trafficking [72]. Thus, we investigated if the presence of an enriched cholesterol environment could differentially regulate this trafficking into placental cells. This paper reports the diminution of the GLUT1 protein expression in the placental plasma membrane fraction of ECD dams with the concomitant increase in the cytosolic fraction, while no modification of the GLUT4 protein distribution was observed between these cellular components. Interestingly, under normal conditions, Hahn et al [73] demonstrated that GLUT1 is predominantly expressed in plasma membrane of cultured trophoblast cells compared to GLUT4, while in response to hyperglycemia GLUT1 is translocated from the plasma membranes to the intracellular compartment. In contrast, after short-term insulin stimulation the intracellular pool of GLUT1 translocates to the plasma membrane in rat cardiac myocytes [74], in rat [75] and 3T3-L1 adipocytes [76] and after long-term insulin treatment in L6 skeletal muscle cells [77]. In contrast to GLUT1, under basal, non-stimulated conditions, the majority of GLUT4 is stored intracellularly [74]. Insulin is able to translocate GLUT4 to

the cell surface primarily by stimulation of exocytosis [78]. Insulin also decreases the rate of GLUT4 endocytosis approximately two- to threefold in adipose cells [79, 80]. In our study, we found similar levels of insulin for dams of control and ECD groups. Therefore, modification of translocation of GLUT1 seems to be not regulated by maternal insulinemia. Thus, other factors, such as the membrane lipid environment, could be involved in the regulation of the translocation of GLUT1 in presence of maternal hypercholesterolemia. Effectively, morphological observations indicated that the placentas of ECD dams showed an important accumulation of lipids [46]. Moreover, several studies also showed that a high concentration of cholesterol in membranes is correlated with a reduction of membrane fluidity and vice versa [81, 82]. Thus, hypoglycemia in low birth weight offspring described in the present study could be related to a reduction in GLUT1 in plasma membrane.

Concomitantly with GLUTs, transmembrane transfer of glucose is mediated by SGLTs protein. Six main isoforms of SGLT have been identified in the small intestine, heart and kidney [21] and their function, binding affinity and capacity have been intensively studied. However, there is little information available on this sodium-glucose cotransporters and its function in the placenta. The presence of the SGLT-2 isoform has been shown in human trophoblast cell in culture. Similarly to GLUT1, the SGLT-2 (mRNA) expression is also down-regulated in trophoblast cells cultured under hyperglycemic conditions [19]. The SGLT1 is a high-affinity, low-capacity sodium-glucose symporter with a sodium-to-glucose coupling ratio of 2:1 [21]. Although the expression of SGLT-1 in placenta has not been previously reported, previous studies implied that sodium-related glucose transporter might be present in placental tissues [83-85]. Our results showed for the first time the presence of SGLT-1 in rabbit placenta and indicated that maternal hypercholesterolemia down-regulates the expression of SGLT-1 protein. Thus additional studies are necessary to evaluate whether SGLTs are involved in placental glucose transport under pathologic conditions.

In summary, our study showed that maternal hypercholesterolemia during gestation induces hypoglycemia in offspring without any modification of the maternal glucose, and the solely reduction of the translocation of the GLUT1 to the placental plasma membrane. In addition, we reported for the first time the presence of SGLT-1 protein in rabbit placenta and its down-regulation by hypercholesterolemia. All these data suggest that the offspring hypoglycemia and low birth weight could be related to a defect in the routing of GLUT1 according the lipid cell environment.

REFERENCES

1. Battaglia FC, Meschia G. Principal substrates of fetal metabolism. *Physiol Rev* 1978; 58: 499-527.
2. Ericsson A, Hamark B, Powell TL, Jansson T. Glucose transporter isoform 4 is expressed in the syncytiotrophoblast of first trimester human placenta. *Hum Reprod* 2005; 20: 521-530.
3. Hay WW, Jr., Sparks JW, Wilkening RB, Battaglia FC, Meschia G. Fetal glucose uptake and utilization as functions of maternal glucose concentration. *Am J Physiol* 1984; 246: E237-242.
4. Johnson LW, Smith CH. Monosaccharide transport across microvillous membrane of human placenta. *Am J Physiol* 1980; 238: C160-168.
5. Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Del Prato S. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2003; 19: 259-270.
6. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1256S-1261S.
7. Nelson DM, Smith RM, Jarett L. Nonuniform distribution and grouping of insulin receptors on the surface of human placental syncytial trophoblast. *Diabetes* 1978; 27: 530-538.
8. Gomez-Nieto J, Duran-Garcia S. Insulin receptor interaction in human placental plasma membranes. *Rev Esp Fisiol* 1981; 37: 269-276.
9. Challier JC, Hauguel S, Desmaizieres V. Effect of insulin on glucose uptake and metabolism in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 803-807.
10. Wheeler PD, Yudilevich DL. Effect of insulin, prostaglandin E1 and uptake inhibitors on glucose transport in the perfused guinea-pig placenta. *J Dev Physiol* 1989; 11: 159-169.
11. Boileau P, Cauzac M, Pereira MA, Girard J, Hauguel-De Mouzon S. Dissociation between insulin-mediated signaling pathways and biological effects in placental cells: role of protein kinase B and MAPK phosphorylation. *Endocrinology* 2001; 142: 3974-3979.
12. Brunette MG, Lajeunesse D, Leclerc M, Lafond J. Effect of insulin on D-glucose transport by human placental brush border membranes. *Mol Cell Endocrinol* 1990; 69: 59-68.
13. Kniss DA, Shubert PJ, Zimmerman PD, Landon MB, Gabbe SG. Insulinlike growth factors. Their regulation of glucose and amino acid transport in placental trophoblasts isolated from first-trimester chorionic villi. *J Reprod Med* 1994; 39: 249-256.
14. Gordon MC, Zimmerman PD, Landon MB, Gabbe SG, Kniss DA. Insulin and glucose modulate glucose transporter messenger ribonucleic acid expression and glucose uptake in trophoblasts isolated from first-trimester chorionic villi. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1089-1097.

15. Girard J, Ferre P, Pegorier JP, Duee PH. Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-weaning transition. *Physiol Rev* 1992; 72: 507-562.
16. Baumann MU, Deborde S, Illsley NP. Placental glucose transfer and fetal growth. *Endocrine* 2002; 19: 13-22.
17. Devaskar SU, Mueckler MM. The mammalian glucose transporters. *Pediatr Res* 1992; 31: 1-13.
18. Takata K, Hirano H. Mechanism of glucose transport across the human and rat placental barrier: a review. *Microsc Res Tech* 1997; 38: 145-152.
19. Li H, Gu Y, Zhang Y, Lucas MJ, Wang Y. High glucose levels down-regulate glucose transporter expression that correlates with increased oxidative stress in placental trophoblast cells in vitro. *J Soc Gynecol Investig* 2004; 11: 75-81.
20. Joost HG, Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol Membr Biol* 2001; 18: 247-256.
21. Wright EM. Renal Na(+)-glucose cotransporters. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280: F10-18.
22. Zhou J, Bondy CA. Placental glucose transporter gene expression and metabolism in the rat. *J Clin Invest* 1993; 91: 845-852.
23. Hahn T, Hartmann M, Blaschitz A, Skofitsch G, Graf R, Dohr G, Desoye G. Localisation of the high affinity facilitative glucose transporter protein GLUT 1 in the placenta of human, marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) and rat at different developmental stages. *Cell Tissue Res* 1995; 280: 49-57.
24. Illsley NP. Glucose transporters in the human placenta. *Placenta* 2000; 21: 14-22.
25. Doege H, Schurmann A, Bahrenberg G, Brauers A, Joost HG. GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. *J Biol Chem* 2000; 275: 16275-16280.
26. Rogers S, Macheda ML, Docherty SE, Carty MD, Henderson MA, Soeller WC, Gibbs EM, James DE, Best JD. Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282: E733-738.
27. Sibley CP BR. Mechanisms of transfer across the human placenta. . In: Polin RA FW (ed.) *Fetal and neonatal physiology.*, vol. 1. Philadelphia: Saunders; 1992: 62-74.
28. Ehrhardt RA, Bell AW. Developmental increases in glucose transporter concentration in the sheep placenta. *Am J Physiol* 1997; 273: R1132-1141.
29. Xing AY, Challier JC, Lepercq J, Cauzac M, Charron MJ, Girard J, Hauguel-de Mouzon S. Unexpected expression of glucose transporter 4 in villous stromal cells of human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4097-4101.
30. Limesand SW, Regnault TR, Hay WW, Jr. Characterization of glucose transporter 8 (GLUT8) in the ovine placenta of normal and growth restricted fetuses. *Placenta* 2004; 25: 70-77.
31. Gude NM, Stevenson JL, Rogers S, Best JD, Kalionis B, Huisman MA, Erwich JJ, Timmer A, King RG. GLUT12 expression in human placenta in first trimester and term. *Placenta* 2003; 24: 566-570.

32. Schwartz R, Teramo KA. Effects of diabetic pregnancy on the fetus and newborn. *Semin Perinatol* 2000; 24: 120-135.
33. Kind KL, Collett RA, Harvey AJ, Thompson JG. Oxygen-regulated expression of GLUT-1, GLUT-3, and VEGF in the mouse blastocyst. *Mol Reprod Dev* 2005; 70: 37-44.
34. Dandrea J, Wilson V, Gopalakrishnan G, Heasman L, Budge H, Stephenson T, Symonds ME. Maternal nutritional manipulation of placental growth and glucose transporter 1 (GLUT-1) abundance in sheep. *Reproduction* 2001; 122: 793-800.
35. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE, Ekizoglou S, Doherty C, James L, Gusterson B, Hales CN. The maternal endocrine environment in the low-protein model of intra-uterine growth restriction. *Br J Nutr* 2003; 90: 815-822.
36. Economides DL, Nicolaides KH. Blood glucose and oxygen tension levels in small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 385-389.
37. Marconi AM, Paolini C, Buscaglia M, Zerbe G, Battaglia FC, Pardi G. The impact of gestational age and fetal growth on the maternal-fetal glucose concentration difference. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 937-942.
38. Jansson T, Ylven K, Wennergren M, Powell TL. Glucose transport and system A activity in syncytiotrophoblast microvillous and basal plasma membranes in intrauterine growth restriction. *Placenta* 2002; 23: 392-399.
39. Pickard MR, Leonard AJ, Ogilvie LM, Edwards PR, Evans IM, Sinha AK, Ekins RP. Maternal hypothyroidism in the rat influences placental and liver glycogen stores: fetal growth retardation near term is unrelated to maternal and placental glucose metabolic compromise. *J Endocrinol* 2003; 176: 247-255.
40. Kamei Y, Tsutsumi O, Yamakawa A, Oka Y, Taketani Y, Imaki J. Maternal epidermal growth factor deficiency causes fetal hypoglycemia and intrauterine growth retardation in mice: possible involvement of placental glucose transporter GLUT3 expression. *Endocrinology* 1999; 140: 4236-4243.
41. Langdown ML, Sugden MC. Enhanced placental GLUT1 and GLUT3 expression in dexamethasone-induced fetal growth retardation. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 185: 109-117.
42. Boileau P, Mrejen C, Girard J, Hauguel-de Mouzon S. Overexpression of GLUT3 placental glucose transporter in diabetic rats. *J Clin Invest* 1995; 96: 309-317.
43. Ogura K, Sakata M, Yamaguchi M, Kurachi H, Murata Y. High concentration of glucose decreases glucose transporter-1 expression in mouse placenta in vitro and in vivo. *J Endocrinol* 1999; 160: 443-452.
44. Das UG, Sadiq HF, Soares MJ, Hay WW, Jr., Devaskar SU. Time-dependent physiological regulation of rodent and ovine placental glucose transporter (GLUT-1) protein. *Am J Physiol* 1998; 274: R339-347.
45. Das UG, He J, Ehrhardt RA, Hay WW, Jr., Devaskar SU. Time-dependent physiological regulation of ovine placental GLUT-3 glucose transporter protein. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R2252-2261.
46. Montoudis A, Simoneau L, Brissette L, Forest JC, Savard R, Lafond J. Impact of a cholesterol enriched diet on maternal and fetal plasma lipids and fetal deposition in pregnant rabbits. *Life Sci* 1999; 64: 2439-2450.

47. Montoudis A, Simoneau L, Lafond J. Influence of a maternal cholesterol-enriched diet on [1-14C]-linoleic acid and L-[4, 5-3H]-leucine entry in plasma of rabbit offspring. *Life Sci* 2004; 74: 1751-1762.
48. Malm J, Birn H, Frohm B, Hansen SI, Hoier-Madsen M, Holm J. A minor fraction of a high-affinity folate binding protein from the epididymis is associated with membranous vesicles and spermatozoa in human semen. *Int J Androl* 2005; 28: 267-274.
49. Economides DL, Crook D, Nicolaides KH. Investigation of hypertriglyceridemia in small for gestational age fetuses. *Fetal Ther* 1988; 3: 165-172.
50. Diaz M, Leal C, Ramon y Cajal J, Jimenez MD, Martinez H, Pocovi M, Grande F. Cord blood lipoprotein-cholesterol: relationship birth weight and gestational age of newborns. *Metabolism* 1989; 38: 435-438.
51. Herrera E, Palacin M, Martin A, Lasuncion MA. Relationship between maternal and fetal fuels and placental glucose transfer in rats with maternal diabetes of varying severity. *Diabetes* 1985; 34 Suppl 2: 42-46.
52. Economides DL, Proudler A, Nicolaides KH. Plasma insulin in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 1091-1094.
53. Spencer JA, Chang TC, Crook D, Proudler A, Felton CV, Robson SC, Hauesler M. Third trimester fetal growth and measures of carbohydrate and lipid metabolism in umbilical venous blood at term. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997; 76: F21-25.
54. Schneider H, Challier J-C, Dancis J. Transfer and metabolism of glucose and lactate in the human placenta studied by a perfusion system in vitro. In: Young M, Boyd R, Longo L, Telegdy G (eds.), *Placental Transfer: Methods and Interpretation*. Placenta (Supplement 2). London, East Sussex: W.B. Saunders Company Ltd; 1981: 129-137.
55. Challis DE, Pfarrer CD, Ritchie JW, Koren G, Adamson SL. Glucose metabolism is elevated and vascular resistance and maternofetal transfer is normal in perfused placental cotyledons from severely growth-restricted fetuses. *Pediatr Res* 2000; 47: 309-315.
56. Malek A, Sager R, Schneider H. Utilization of glucose by human placental tissue as a function of gestation age. *J Soc Gynecol Investig*. 1995: 211.
57. Magnusson AL, Powell T, Wennergren M, Jansson T. Glucose metabolism in the human preterm and term placenta of IUGR fetuses. *Placenta* 2004; 25: 337-346.
58. Ogata ES, Bussey ME, Finley S. Altered gas exchange, limited glucose and branched chain amino acids, and hypoinsulinism retard fetal growth in the rat. *Metabolism* 1986; 35: 970-977.
59. Unterman T, Lascon R, Gotway MB, Oehler D, Gounis A, Simmons RA, Ogata ES. Circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and hepatic mRNA are increased in the small for gestational age (SGA) fetal rat. *Endocrinology* 1990; 127: 2035-2037.
60. Simmons RA, Flozak AS, Ogata ES. The effect of insulin and insulin-like growth factor-I on glucose transport in normal and small for gestational age fetal rats. *Endocrinology* 1993; 133: 1361-1368.

61. Van Assche FA, De Prins F, Aerts L, Verjans M. The endocrine pancreas in small-for-dates infants. *Br J Obstet Gynaecol* 1977; 84: 751-753.
62. Fowden AL, Comline RS. The effects of pancreatectomy on the sheep fetus in utero. *Q J Exp Physiol* 1984; 69: 319-330.
63. Fowden AL. The role of insulin in prenatal growth. *J Dev Physiol* 1989; 12: 173-182.
64. Ramos MP, Crespo-Solans MD, del Campo S, Cacho J, Herrera E. Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285: E318-328.
65. Ryan EA, Liu D, Bell RC, Finegood DT, Crawford J. Long-term consequences in offspring of diabetes in pregnancy: studies with syngeneic islet-transplanted streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 1995; 136: 5587-5592.
66. Urbach J, Mor L, Ronen N, Brandes JM. Does insulin affect placental glucose metabolism and transfer? *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 953-959.
67. Ericsson A, Hamark B, Jansson N, Johansson BR, Powell TL, Jansson T. Hormonal regulation of glucose and system A amino acid transport in first trimester placental villous fragments. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R656-662.
68. Picciano MF. Pregnancy and lactation: physiological adjustments, nutritional requirements and the role of dietary supplements. *J Nutr* 2003; 133: 1997S-2002S.
69. Knipp GT, Audus KL, Soares MJ. Nutrient transport across the placenta. *Adv Drug Deliv Rev* 1999; 38: 41-58.
70. Lesage J, Hahn D, Leonhardt M, Blondeau B, Breant B, Dupouy JP. Maternal undernutrition during late gestation-induced intrauterine growth restriction in the rat is associated with impaired placental GLUT3 expression, but does not correlate with endogenous corticosterone levels. *J Endocrinol* 2002; 174: 37-43.
71. Lee DH, Chung MY, Lee JU, Kang DG, Paek YW. Changes of glucose transporters in the cerebral adaptation to hypoglycemia. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 47: 15-23.
72. Luiken JJ, Coort SL, Koonen DP, van der Horst DJ, Bonen A, Zorzano A, Glatz JF. Regulation of cardiac long-chain fatty acid and glucose uptake by translocation of substrate transporters. *Pflugers Arch* 2004; 448: 1-15.
73. Hahn T, Hahn D, Blaschitz A, Korgun ET, Desoye G, Dohr G. Hyperglycaemia-induced subcellular redistribution of GLUT1 glucose transporters in cultured human term placental trophoblast cells. *Diabetologia* 2000; 43: 173-180.
74. Zorzano A, Sevilla L, Camps M, Becker C, Meyer J, Kammermeier H, Munoz P, Guma A, Testar X, Palacin M, Blasi J, Fischer Y. Regulation of glucose transport, and glucose transporters expression and trafficking in the heart: studies in cardiac myocytes. *Am J Cardiol* 1997; 80: 65A-76A.
75. Zorzano A, Wilkinson W, Kotliar N, Thoidis G, Wadzinski BE, Ruoho AE, Pilch PF. Insulin-regulated glucose uptake in rat adipocytes is mediated by two transporter isoforms present in at least two vesicle populations. *J Biol Chem* 1989; 264: 12358-12363.

76. Clancy BM, Czech MP. Hexose transport stimulation and membrane redistribution of glucose transporter isoforms in response to cholera toxin, dibutyryl cyclic AMP, and insulin in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 1990; 265: 12434-12443.
77. Klip A, Ramlal T, Bilan PJ, Marette A, Liu Z, Mitumoto Y. What signals are involved in the stimulation of glucose transport by insulin in muscle cells? *Cell Signal* 1993; 5: 519-529.
78. Stagsted J, Olsson L, Holman GD, Cushman SW, Satoh S. Inhibition of internalization of glucose transporters and IGF-II receptors. Mechanism of action of MHC class I-derived peptides which augment the insulin response in rat adipose cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 22809-22813.
79. Holman GD LLL, Cushman SW. Insulin-stimulated GLUT4 glucose transporter recycling. A problem in membrane protein subcellular trafficking through multiple pools. *J Biol Chem* 1994; 269: 17516-17524.
80. Kandror KV, Pilch PF. Compartmentalization of protein traffic in insulin-sensitive cells. *Am J Physiol* 1996; 271: E1-14.
81. Presti FT. The role of cholesterol in regulating membrane fluidity. In: Gordon LM (ed.) *Membrane fluidity in biology*. New York: Plenum Press; 1985: 1-53.
82. van der Meer BW. Biomembrane structure: a dynamics viewed by fluorescence. In: Hilderson HJ, Harris, J.R. (ed.) *Subcellular biochemistry* London: Plenum Press; 1988: 1-53.
83. Prasad PD, Huang W, Wang H, Leibach FH, Ganapathy V. Transport mechanisms for vitamin C in the JAR human placental choriocarcinoma cell line. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1369: 141-151.
84. Ingemann RL, Stankova L, Bigley RH. Role of monosaccharide transporter in vitamin C uptake by placental membrane vesicles. *Am J Physiol* 1986; 250: C637-641.
85. Rybakowski C, Mohar B, Wohlers S, Leichtweiss HP, Schroder H. The transport of vitamin C in the isolated human near-term placenta. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 62: 107-114.

FIGURE LEGEND

Fig.1. The glucose concentration (mg/dl) observed in (A) the serum of dams before mating (day 0 for control group (n=6)) and before the administration of the diet (day -7 for ECD group (n=7)) and at term, day 30, (B) the serum of dams at term and offspring from both control (n=16) and ECD group (n=18). Each experiment was performed in duplicate and averaged. The value represents the mean \pm SEM.

*p<0.05, control offspring vs. ECD offspring

**p<0.001, ECD dams vs. ECD offspring.

Fig.2. Insulin level (mUI/L) observed in (A) serum of dams before mating (day 0 for control group (n=7)) and before administration of diet (day -7 for ECD group (n=7)) and at term (day 30 for dams of both groups (control, n=9 and ECD, n=11) and (B) in serum of dams at term and offspring (control, n=20 and ECD, n=29). Each experiment was performed in duplicate and averaged. The values represent the mean \pm SEM. *p<0.05, compared to day 0 or day -7 for each group respectively.

Fig.3. Representative mRNA expression of GLUT1, GLUT3 and GLUT4 in control rabbit placenta (A). Quantitative mRNA expression of GLUT1, GLUT3 and GLUT4 by real-time RT-PCR in rabbit placentas (vs. HPRT-1) of both control (GLUT1, n=5, GLUT3 and GLUT4, n=8) and ECD (GLUT1, n=7, GLUT3 and GLUT4, n=9) (B). Values are given as mean \pm SEM.

Fig.4. Representative Western blot showing the content of placental GLUT1 and GAPDH (A) using total protein extract in control and ECD group of rabbit. 20 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT1 total protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (control, n=4; ECD, n=5) (B). Values are given as mean \pm SEM.

Fig.5. Representative Western blot showing the content of placental GLUT4 and GAPDH (A) using total protein extract in control and ECD group of rabbit. 40 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT4 total protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (control, n=4; ECD, n=5) (B). Values are given as mean \pm SEM.

Fig.6. Representative Western blot showing the content of placental SGLT-1 and GAPDH (A) using total protein extract in control and ECD group of rabbit. 40 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of SGLT-1 total protein expression in placentas

of control and ECD group of rabbits (control, n=4; ECD, n=4) (B). Values are given as mean \pm SEM. ** $p < 0.001$.

Fig.7. Representative Western blot showing the content of placental GLUT1 and GAPDH (A) using cytosolic fraction in control and ECD group of rabbit. 10 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT1 cytosolic protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (control, n=4; ECD, n=5) (B). Values are given as mean \pm SEM. * $p < 0.0005$.

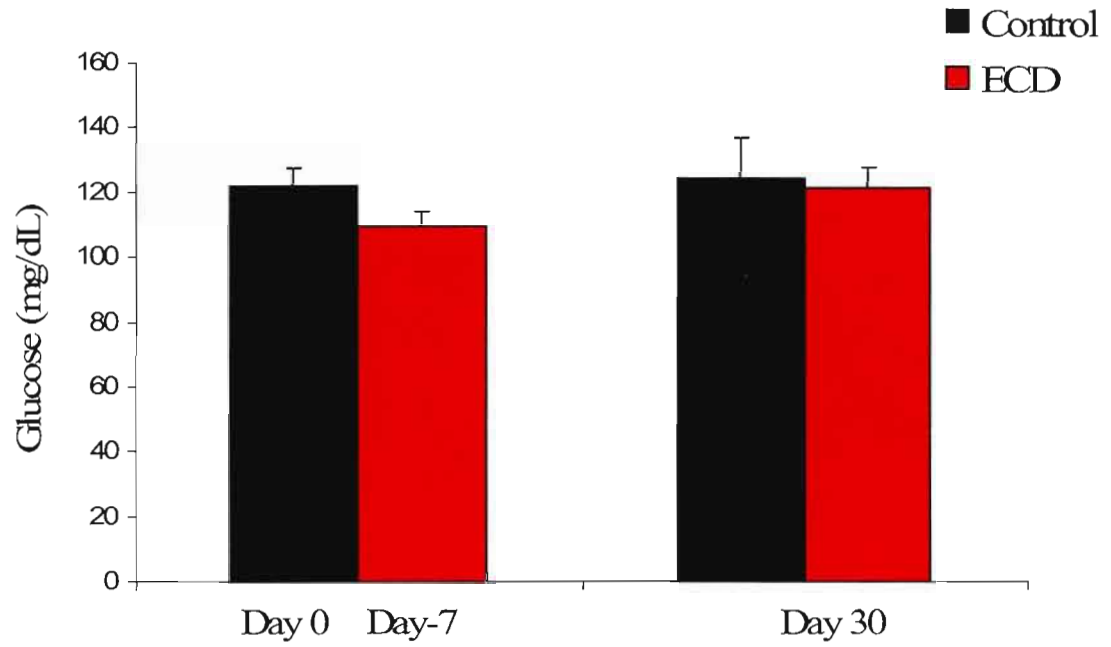
Fig.8. Representative Western blot showing the content of placental GLUT1 and GAPDH (A) using plasma membrane fraction in control and ECD group of rabbit. 20 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT1 plasma membrane protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (control, n=3; ECD, n=4) (B). Values are given as mean \pm SEM. * $p < 0.005$.

Fig.9. Representative Western blot showing the content of placental GLUT4 and GAPDH (A) using cytosolic fraction in control and ECD group of rabbit. 20 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT4 cytosolic protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (control, n=4; ECD, n=5) (B). Values are given as mean \pm SEM.

Fig.10. Representative Western blot showing the content of placental GLUT4 and GAPDH (A) using plasma membrane fraction in control and ECD group of rabbit. 30 μ l of protein was loaded for each sample. The mean density of GLUT4 plasma membrane protein expression in placentas of control and ECD group of rabbits (control, n=4; ECD, n=4) (B). Values are given as mean \pm SEM.

Figure 1

A



B

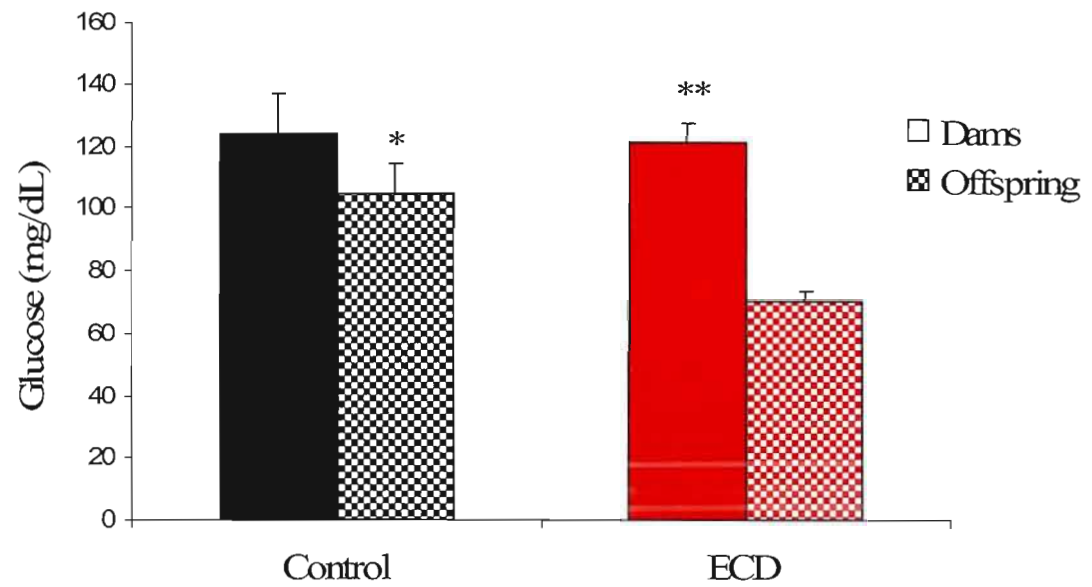
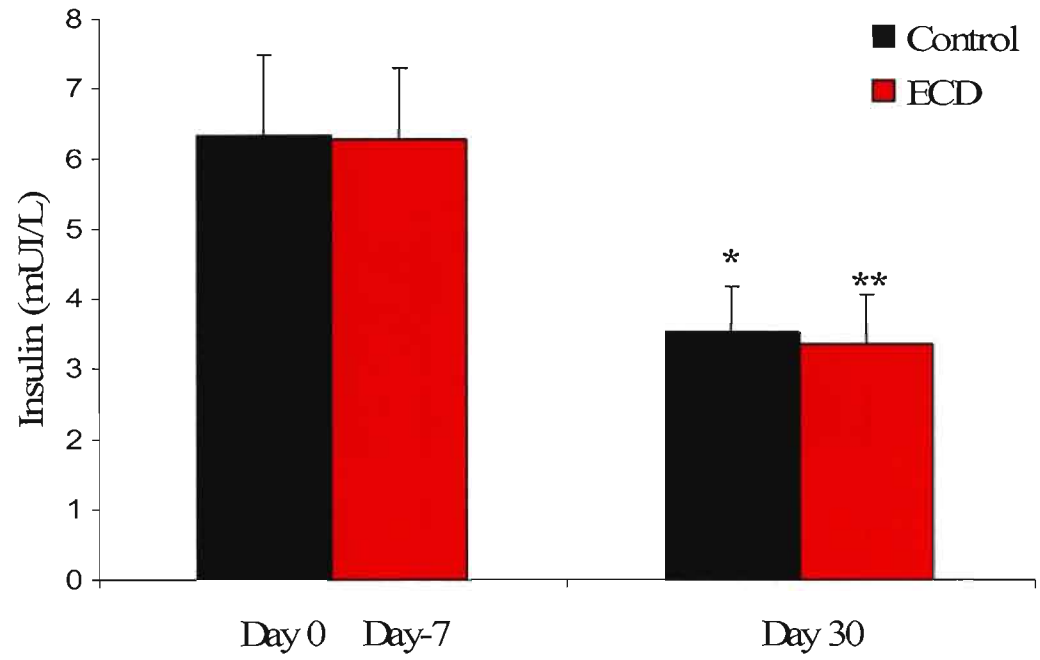


Figure 2

A



B

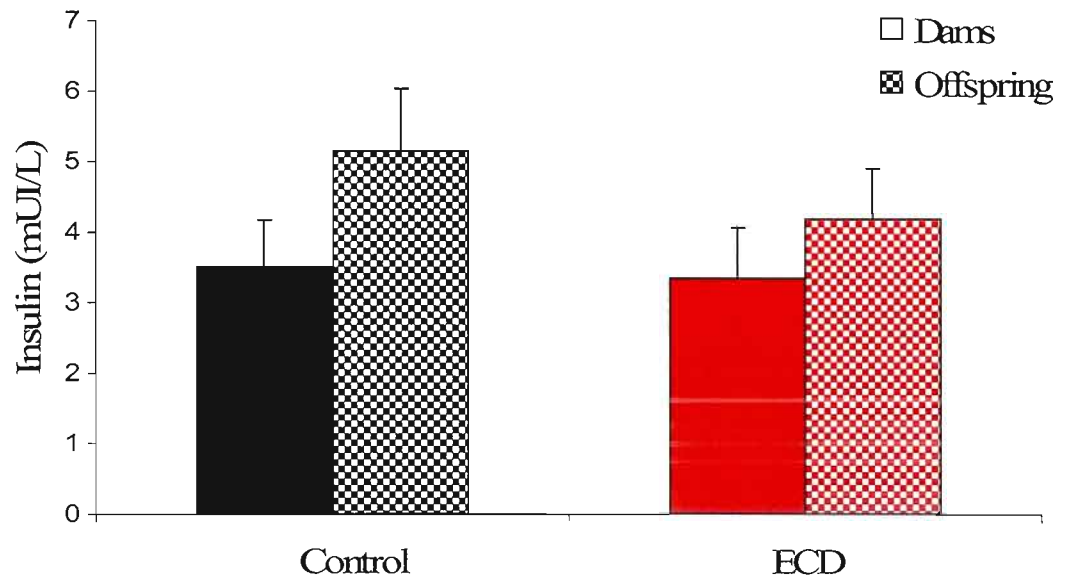


Figure 3

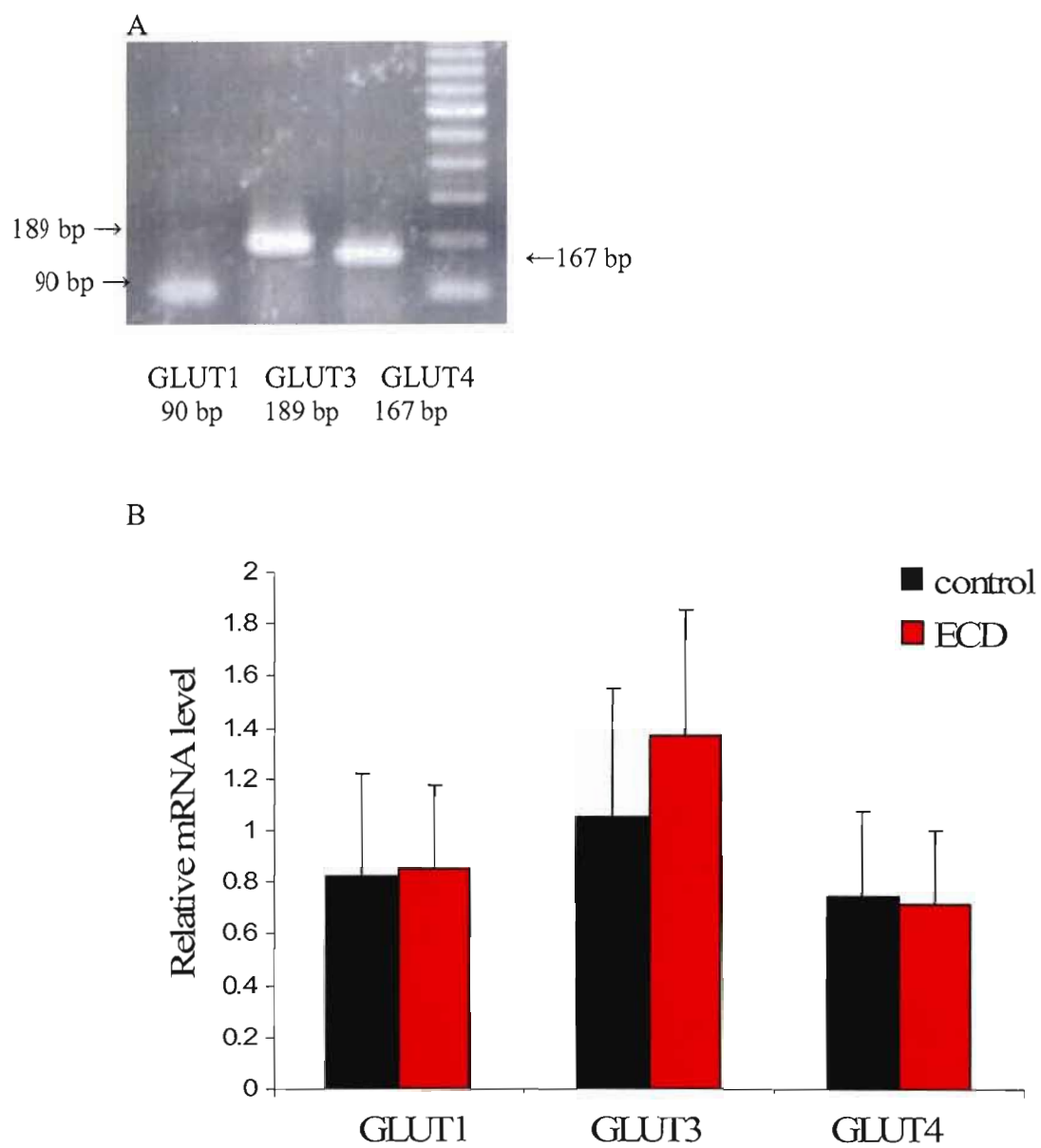
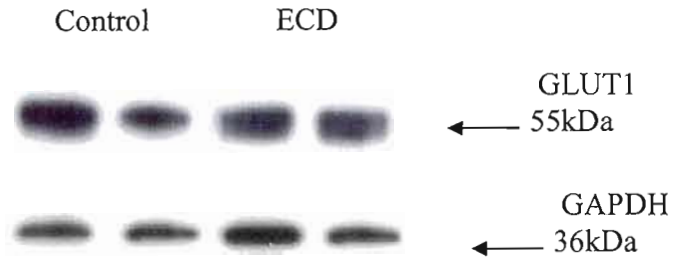


Figure 4

A



B

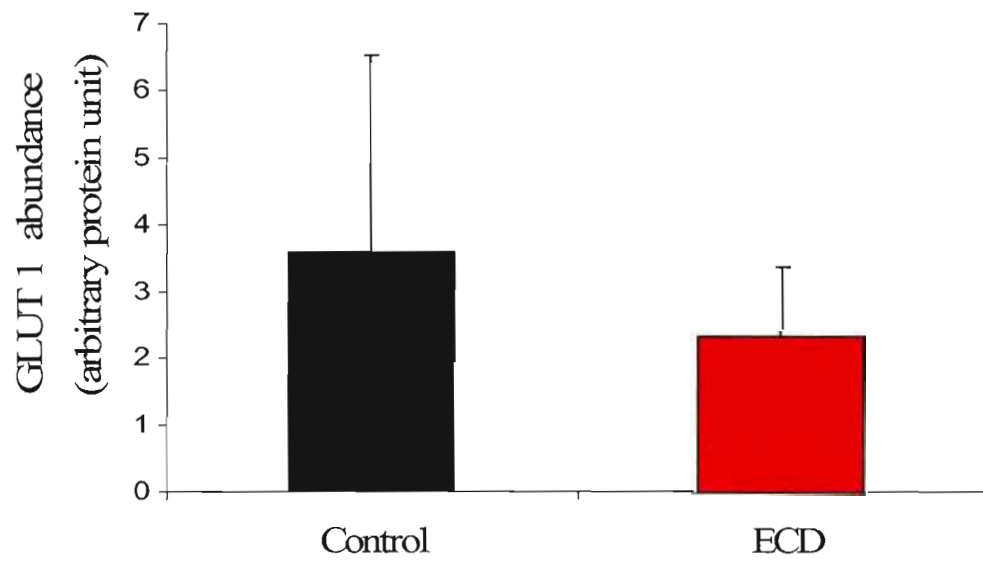
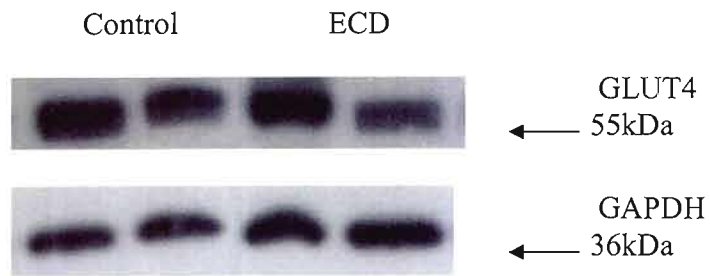


Figure 5

A



B

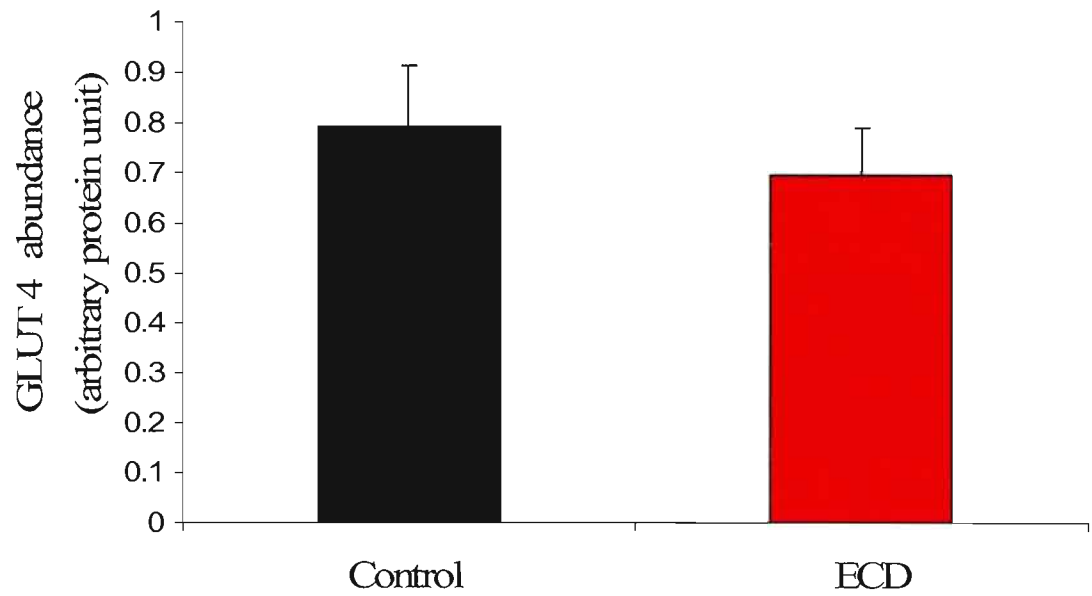


Figure 6

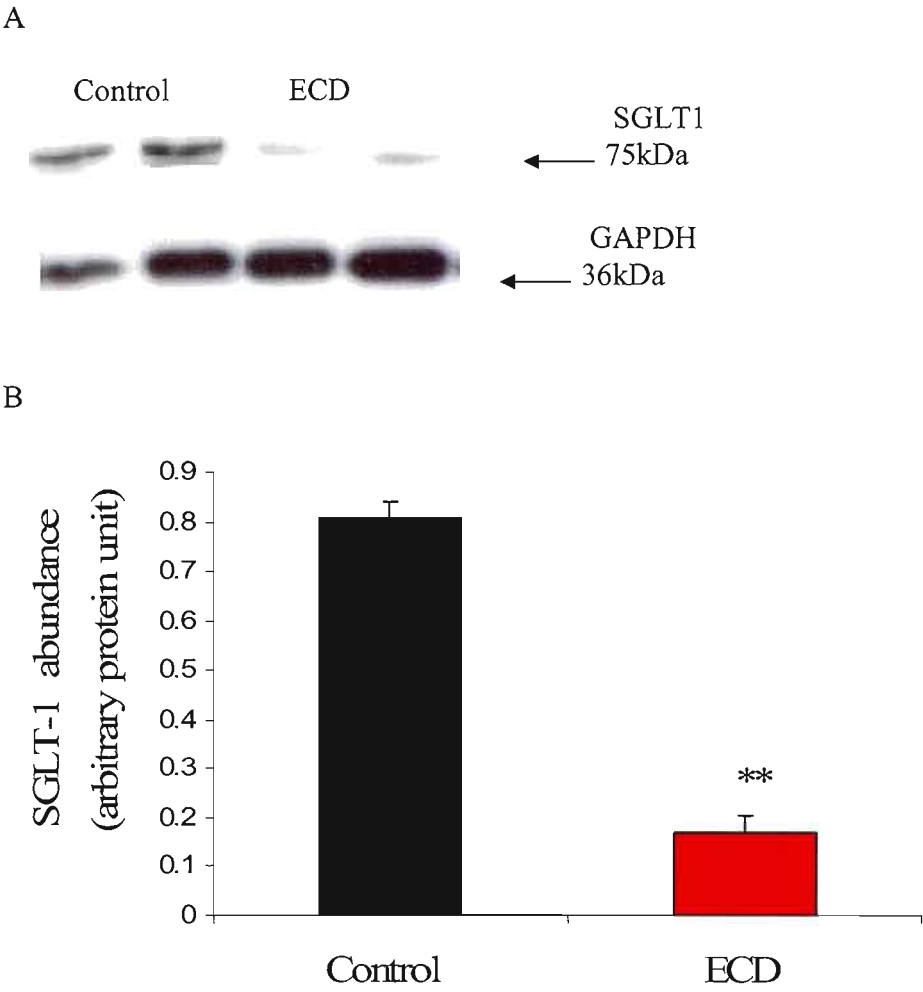
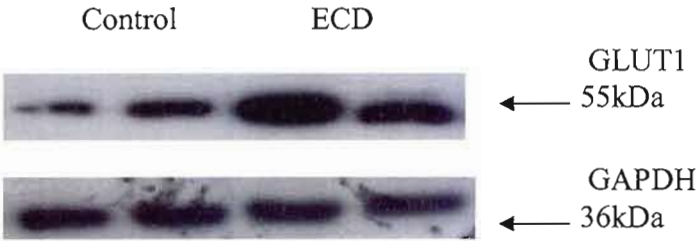


Figure 7

A



B

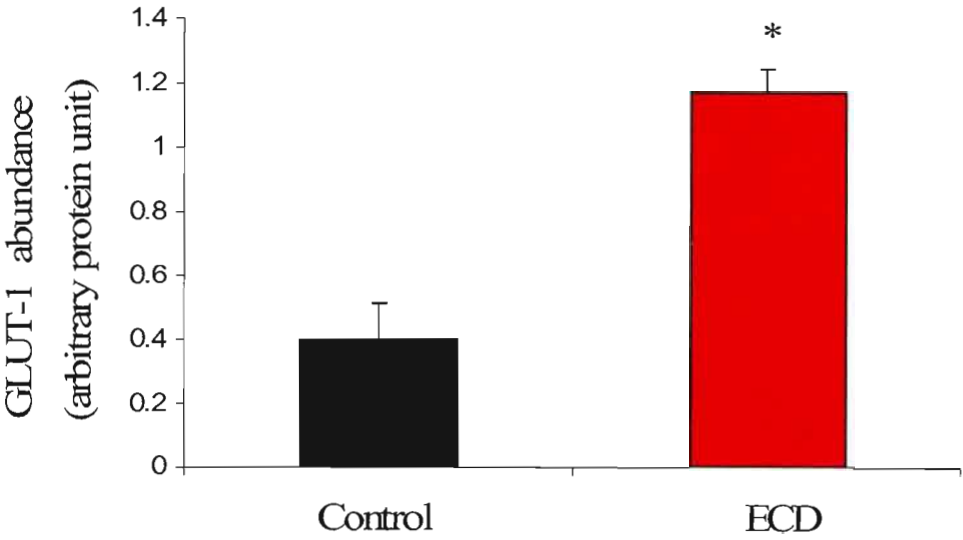


Figure 8

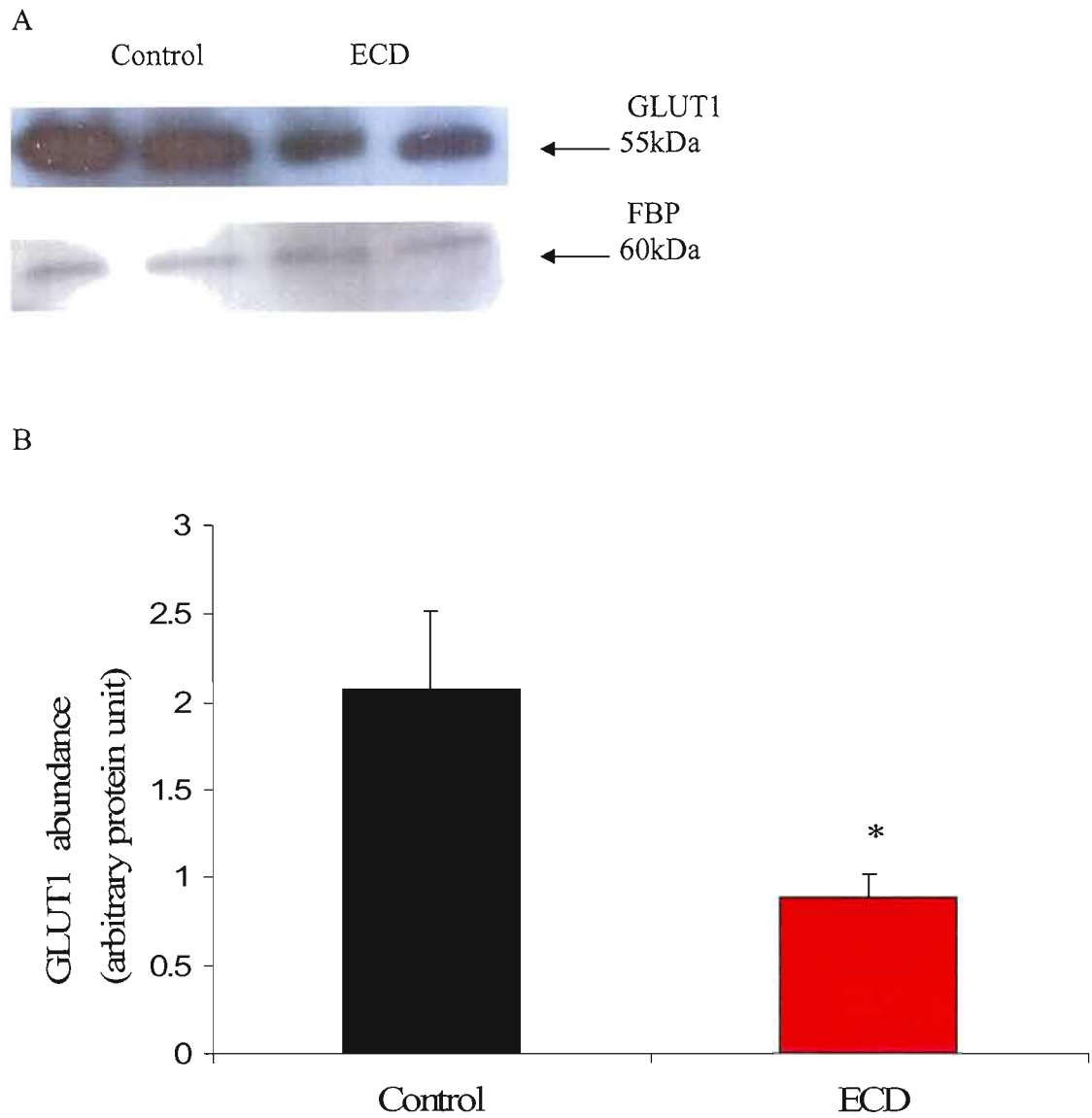


Figure 9

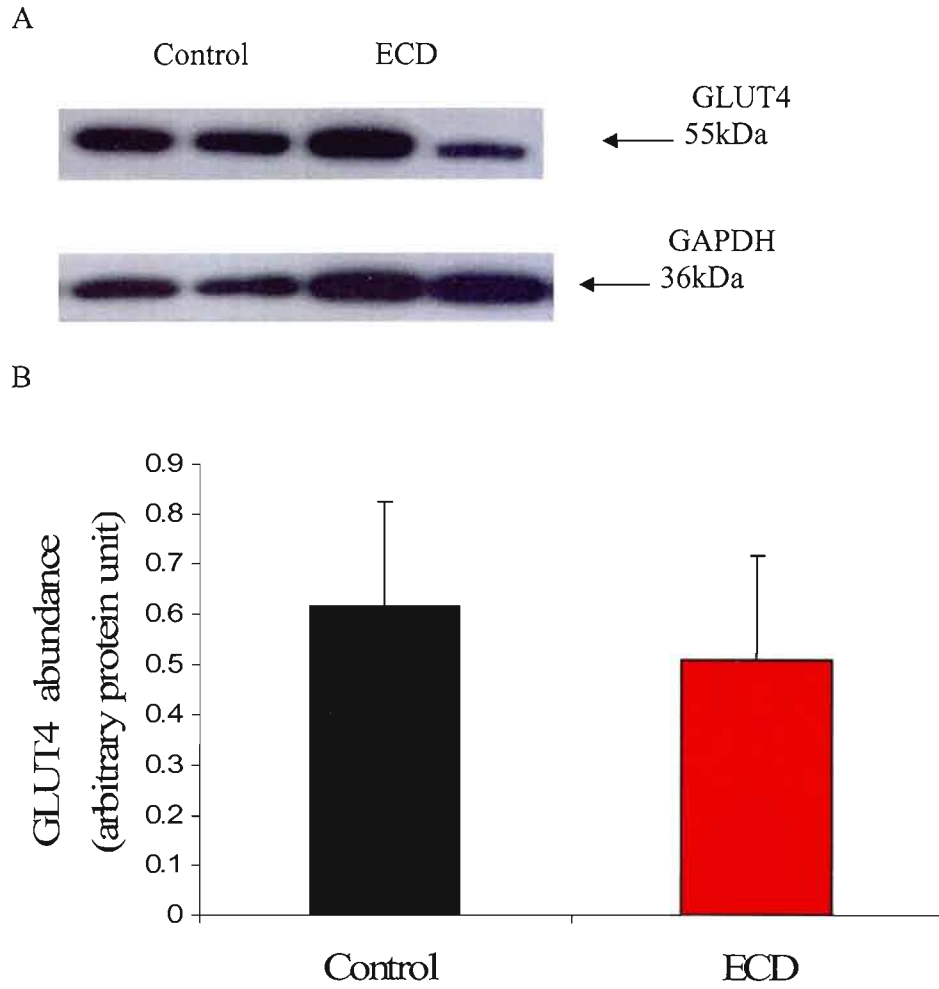
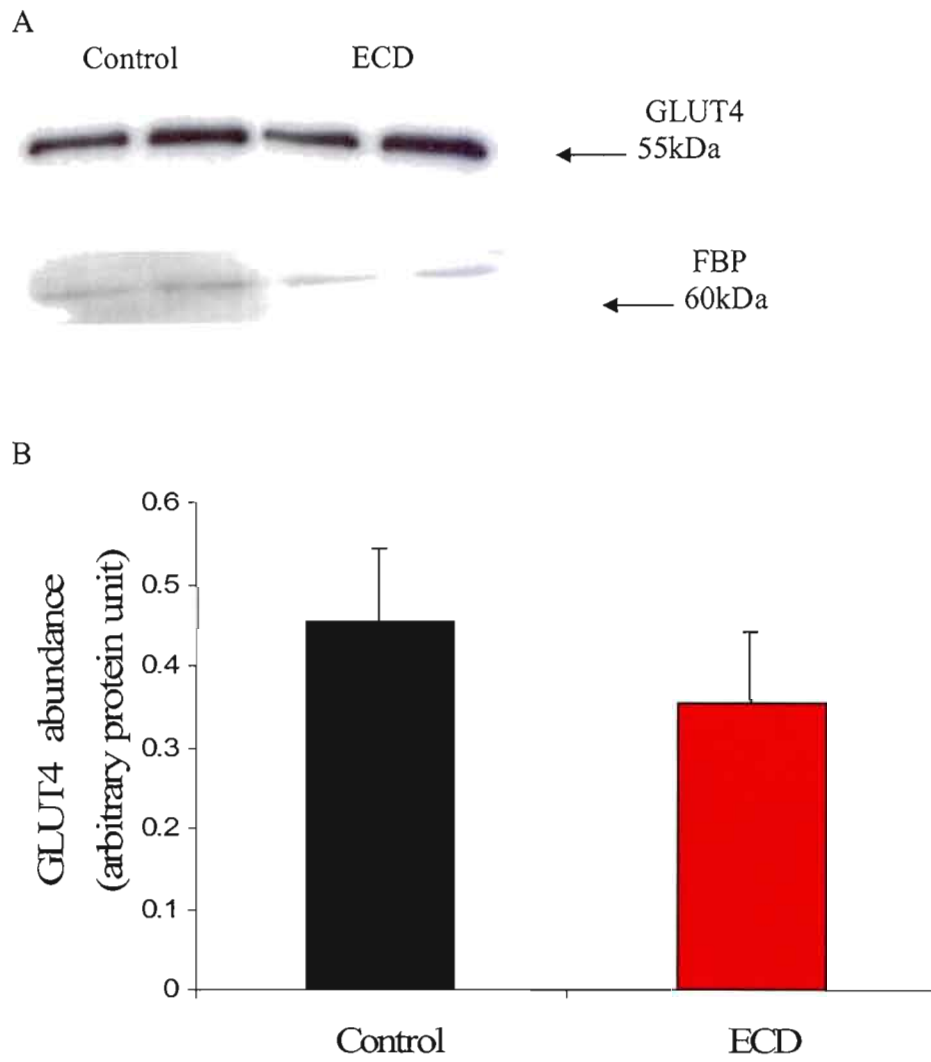


Figure 10



CONCLUSION GÉNÉRALE

Les études réalisées dans le cadre de ma maîtrise avaient pour but la poursuite de travaux entrepris dans notre laboratoire portant sur l'impact d'une DEC (0.2%) sur le développement fœtal, dont la principale conclusion a été que le poids des rejetons hypercholestérolémiques est réduit par rapport à celui des rejetons contrôles. Toutefois, les modifications métaboliques conduisant à ces effets sont demeurées inconnues, tant du point de vue maternel que fœtal.

Nous avons voulu vérifier si la diminution du poids des rejetons pouvait être reliée à une modification du métabolisme du glucose et de l'insuline, ainsi qu'à une variation de l'expression des transporteurs du glucose placentaire en présence d'une hypercholestérolémie. Pour ce faire, nous avons fait un dosage du glucose et de l'insuline dans le sérum maternel et fœtal et évalué l'expression de SGLT1 et des GLUTs (ARNm et protéines) placentaires. Les résultats de notre présente étude démontrent que la DEC induit une diminution de la concentration du glucose dans le sérum fœtal, sans aucune influence sur la glycémie maternelle. Cependant, cette diète ne modifie pas le niveau d'insuline maternelle et fœtale. Par contre, il y a une diminution significative de l'insulinémie maternelle à la fin de la gestation dans les deux groupes des lapines. L'hypercholestérolémie chez les lapines gestantes ne semble pas influencer l'expression génétique du GLUT1, GLUT3 et GLUT4. Dans cette étude nous avons démontré que la DEC ne modifie pas l'expression protéique du GLUT1 et GLUT4 placentaire dans des extraits de protéines totales, mais elle diminue celle du SGLT1. Nous avons voulu vérifier si l'hypercholestérolémie pouvait altérer le routage des GLUTs du pool intracellulaire vers la membrane plasmique. Nos résultats démontrent que la DEC induit une diminution de la translocation du GLUT1 placentaire vers la membrane plasmique, sans toutefois modifier celui du GLUT4.

Finalement, l'ensemble de cette recherche nous indique qu'un apport adéquat en glucose est essentiel au développement fœtal et que l'hypercholestérolémie affecte la mobilisation des GLUTs. La réduction de l'expression de ces derniers réduit donc le transfert du glucose vers le fœtus, entraînant ainsi une hypoglycémie fœtale et une diminution du poids des rejets à la naissance. Ces résultats feraient sans doute écho au sein de la communauté de chercheurs travaillant dans le domaine.

Il serait intéressant de faire d'autres études avec des échantillons de placentas humains. Nous pourrions évaluer l'expression des transporteurs du glucose placentaires chez les femmes hypercholestérolémiques, ainsi que dans les cas du RCIU associé à la hypercholestérolémie maternelle. Cela permettra certainement de faciliter l'avancement des recherches dans l'étude complexe de RCIU et de la hypercholestérolémie maternelle.

RÉFÉRENCES

- Aldoretta, P.W. et Hay, W.W. 1995. Metabolic substrates for fetal energy metabolism and growth. *Clin. Perynatol.* 22:15-37.
- Alsati, E. et Evain-Brion, D. 1998. Le placenta humain: neuf mois d'une intense activité encore méconnue. *Med. Ther. Ped.* 1:509-516.
- Alves De Assis, S.M., Seguro, A.C. et Helou, C.M. 2003. Effects of maternal hypercholesterolemia on pregnancy and development of offspring. *Pediatr. Nephrol.* 18(4):328-334.
- Atkins, V., Flozak, A.S., Ogata, E.S. et Simmons, R.A. 1994. The effects of severe maternal diabetes on glucose transport in the fetal rat. *Endocrinology* 135: 409-415.
- Augustin, R., Pocar, P., Navarrete-Santos, A., Wrenzycki, C., Gandolfi, F., Niemann, H. et Fischer, B. 2001. Glucose transporter expression is developmentally regulated in vitro derived bovine preimplantation embryos. *Mol. Reprod. Dev.* 60(3):370-376.
- Augustin, R., Carayannopoulos, M.O., Dowd, L.O., Phay, J.E., Moley, J.F. et Moley, K.H. 2004. Identification and characterization of human glucose transporter-like protein-9 (GLUT9): alternative splicing alters trafficking. *J. Biol. Chem.* 279(16):16229-16236.
- Axt, R., Kordina, A.C., Meyberg, R., Reitnauer, K., Mink, D. et Schmidt, W. 1999. Immunohistochemical evaluation of apoptosis in placentae from normal and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 26(3-4):195-198.
- Barker, D.J., Hales, C.N., Fal, C.H., Osmond, C., Phipps, K. et Clark, P.M. 1993. Type 2(non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidemia (Syndrome X): relation to reduced to fetal growth. *Diabetologia* 36:62-67.
- Barros, L.F., Yudilevich, D.L., Jarvis, S.M., Beaumont, N. et Baldwin, S.A. 1995. Quantitation and immunolocalization of glucose transporters in the human placenta. *Placenta* 16(7):623-633.
- Barzago, M.M., Omarini, D., Aramayona, J.J. et Bonati, M. 1992. In situ perfusion in the rabbit: effects of different umbilical flow rates on placental transfer of compounds. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 27(2):113-117.
- Battaglia, F.C. et Meschia, G. 1978. Principal substrates of fetal metabolism. *Physiol. Rev.* 58:499-527.

- Battaglia F.C. et Meschia G. 1986. An introduction to fetal physiology. Academic Press, Orlando.
- Battaglia, F.C. et Regnault, T.R.H. 2001. Placental transport and metabolism of amino acids. *Placenta* 22: 145-161.
- Baudin, G. 2001. Biologie du diabète. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 25(2):55-60.
- Belkacemi, L., Bédard, I., Simoneau, L. et Lafond J. 2005. Calcium channels, transporters and exchangers in placenta: a review. *Cell. Calcium*. 37:1-8.
- Bell, G.I., Burant, C.F., Takeda, J. et Gould, G.W. 1993. Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. *J. Biol. Chem.* 268:19161-19164.
- Birnbaum, M.J., Haspel, H.C., et Rosen, O.M. 1987. Transformation of rat fibroblasts by FSV rapidly increases glucose transporter gene transcription. *Science* 235:1495-1498.
- Boileau, P., Mrejen, C., Girard, J. et Hauguel-de Mouzon, S. 1995. Overexpression of GLUT3 placental glucose transporter in diabetic rats. *J. Clin. Invest.* 96(1):309-317.
- Bortolus R., Chatenoud L., Di Cintio E., Rossi P., Benzi G., Surace M., Parazzini F. 1998. Placental ratio in pregnancies at different risk for intrauterine growth. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 80(2):157-158.
- Boyle, P.J., Shah, S.D., et Cryer, P.E. 1989. Insulin, glucagon, and catecholamines in prevention of hypoglycemia during fasting. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 256: E651-E661.
- Burchell, A., Allan, B.B. et Hume, R. 1994. Glucose-6-phosphatase proteins of the endoplasmic reticulum. *Mol. Membr. Biol.* 11(4):217-227.
- Burcelin, R., Printz, R.L., Kande, J., Assan, R., Granner, D.K. et Girard, J. 1993. Regulation of glucose transporter and hexokinase II expression in tissues of diabetic rats. *Am. J. Physiol.* 265(3 Pt 1):E392-E401.
- Butte, N.F. 2000. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(suppl):1256-1261.
- Carayannopoulos, M. O., Chi, M. M.-Y., Cui, Y., Pingsterhaus, J. M., McKnight ,R. A., Mueckler, M., Devaskar, S.U. et Moley, K. H. 2000. GLUT8 is a glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose uptake in the blastocyst. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:7313-7318.

Carr, B.R. et Simpson, E.R. 1984. Cholesterol synthesis by human fetal hepatocytes: effect of lipoproteins. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1(150):551-557.

Catalano, P.M., Kirwan, J.P., Haugel-de Mouzon, S. et King, J. 2003. Gestational diabetes and insulin resistance: role in short- and long-term implications for mother and fetus. *J. Nutr.* 133(5 Suppl 2):1674-1683.

Cerasi, E. 1975. Mechanism of glucose stimulated secretion in health and diabetes: some re-evaluations and proposals. *Diabetologia* 11:1-13.

Cetin, I., Giovannini, N., Alvino, G., Agostoni, C., Riva, E., Giovannini, M. et Pardi, G. 2002. Intrauterine growth restriction is associated with changes in polyunsaturated fatty acid fetal-maternal relationships. *Pediatr. Res.* 52:750-755.

Challis, D.E., Pfarrer, C.D., Ritchie, J.W., Koren, G. et Adamson, S.L. 2000. Glucose metabolism is elevated and vascular resistance and maternofetal transfer is normal in perfused placental cotyledons from severely growth-restricted fetuses. *Pediatr. Res.* 47(3):309-315.

Cherrington, A.D. 2001. Control of glucose production in vivo by insulin and glucagon. *Dans The Handbook of Physiology: The Endocrine Pancreas and Metabolic Regulation.* Éditeurs: L.S. Jefferson et A.D. Cherrington. Oxford Press, New York. pp. 759-785

Cherrington, A.D., Liljenquist, J.E., Shulman, G.I., Williams, P.E. et Lacy, W.W. 1979. Importance of hypoglycemia-induced glucose production during isolated glucagon deficiency. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. Gastrointest. Physiol.* 236:E263-E271.

Chiang, A-N., Yang, M-L., Hung, J-N., Chou, P. et Shyn, S-K. 1995. Alteration of serum lipid levels and their biological relevances during and after pregnancy. *Life Sci.* 56:2367-2375.

Chiu, K.C., Go, R.C., Aoki, M., Riggs, A.C., Tanizawa, Y., Acton, R.T., Bell, D.S., Goldenberg, R.L., Roseman, J.M. et Permutt, M.A. 1994. Glucokinase gene in gestational diabetes mellitus: population association study and molecular scanning. *Diabetologia* 37:104-110.

Cornelius, M.D., Goldschmidt, L., Day, N.L. et Larkby, C. 2002. Alcohol, tobacco and marijuana use among pregnant teenagers: 6-year follow-up of offspring growth effects. *Neurotoxicol. Teratol.* 24:703-710.

Cryer, P.E. 1993. Glucose counterregulation: Prevention and correction of hypoglycemia in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 264:E149-E155.

- Cushman, S.W. et Wardzala, L.J. 1980. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. Apparent translocation of intracellular transport systems to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 255:4758-4762.
- Cuezva, J.M., Burkett, E.S., Kerr, D.S., Rodman, H.M. et Patel M.S. 1982. The newborn of diabetic rat. I. Hormonal and metabolic changes in the postnatal period. *Pediatr. Res.* 16(8):632-637.
- Czech, M.P. et Buxton, J.M. 1993. Insulin action on the internalization of the GLUT4 glucose transporter in isolated rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 268:9187-9190.
- Damm, P., Kuhl, C., Buschard, K., Jakobsen, B.K., Svejgaard, A., Sodoyez-Goffaux, F., Shattock, M., Bottazzo, G.F. et Molsted-Pedersen L. 1994. Prevalence and predictive value of islet cell autoantibodies and insulin antibodies in women with gestational diabetes. *Diabet. Med.* 11:558-563.
- Das, U.G., Sadiq, H.F., Soares, M.J., Hay, W.W.Jr. et Devaskar, S.U. 1998. Time-dependent physiological regulation of rodent and ovine placental glucose transporter (GLUT-1) protein. *Am. J. Physiol.* 274:R339-347.
- Das, U.G., He, J., Ehrhardt, R.A., Hay, W.W.Jr. et Devaskar, S.U. 2000. Time-dependent physiological regulation of ovine placental GLUT-3 glucose transporter protein. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 279:R2252-R2261.
- Davidson, N.O., Hausman, A.M., Ifkovits, C.A., Buse, J.B., Gould, G.W., Burant, C.F. et Bell, G.I. 1992. Human intestinal glucose transporter expression and localization of GLUT5. *Am. J. Physiol.* 262(3 Pt 1):795-800.
- Dawson, P.A., Mychaleckyj, J.C., Fossey, S.C., Mihic, S.J., Craddock, A.L. et Bowden, D.W. 2001. Sequence and functional analysis of GLUT10: a glucose transporter in the Type 2 diabetes-linked region of chromosome 20q12-13.1. *Mol. Genet. Metab.* 74(1-2):186-199.
- Desoye, G., Schweditsch, M., Pfeiffer, K. et Zechner, R. 1987. Correlation of hormones with lipid and lipoprotein levels during normal pregnancy and postpartum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64:704-712.
- Desoye, G. 1993. Insulin receptors and insulin effects in the human placenta. *Curr. Trends. Exp. Endocrinol.* 1:77-89.

Desoye, G., Hartmann, M., Blaschitz, A., Dohr, G., Hahn, T., Kohnen, G. et Kaufmann, P. 1994. Insulin receptors in syncytiotrophoblast and fetal endothelium of human placenta. Immunohistochemical evidence for developmental changes in distribution pattern. *Histochem.* 101(4):277-285.

Devaskar, S.U., Devaskar, U.P., Schroeder, R.E., deMello, D.E., Fiedorek, F.T.Jr. et Mueckler, M. 1994. Expression of genes involved in placental glucose uptake and transport in the nonobese diabetic mouse pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 171:1316-1323.

Dicke, J.M. et Vergas, D.K. 1994. Neutral amino acid uptake by microvillous and basal membrane vesicles from appropriate and small-for-gestational age human pregnancies. *J. Matern. Fetal. Med.* 3:246-250.

Di Cianni, G., Miccoli, R., Volpe, L., Lencioni, C., Del Prato, S. 2003. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes. Metab. Res. Rev.* 19(4):259-270.

Doege, H., Schürmann, A., Bahrenberg, G., Brauers, A. et Joost, H.-G. 2000a. GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. *J. Biol. Chem.* 275:16275-16280.

Doege, H., Bocianski, A., Joost, H.-G. et Schürmann, A. 2000b. Activity and genomic organization of human glucose transporter 9 (GLUT9), a novel member of the family of sugar-transport facilitators predominantly expressed in brain and leucocytes. *Biochem. J.* 350:771-776.

Doege, H., Bocianski, A., Scheepers, A., Axer, H., Eckel, J., Joost, H.G. et Schurmann, A. 2001. Characterization of human glucose transporter (GLUT) 11 (encoded by SLC2A11), a novel sugar-transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle. *Biochem. J.* 359(Pt 2):443-449.

Economides, D.L., Nicolaides, K.H., Gahl, W.A., Bernardini, I. et Evans, M.I. 1989. Plasma amino acids in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 161:1219-1227.

Enders, A.C. et Blankenship, T.N. 1999. Comparative placental structure. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 38(1): 3-15.

Ferrazzi, E., Bulfamante, G., Mezzopane, R., Barbera, A., Ghidini, A. et Pardi, G. 1999. Uterine Doppler velocimetry and placental hypoxic-ischemic lesion in pregnancies with fetal intrauterine growth restriction. *Placenta* 20(5-6):389-394.

- Flattem, N., Igawa, K., Shiota, M., Emshwiller, M.G., Neal, D.W. et Cherrington, A.D. 2001. Alpha- and beta-cell responses to small changes in plasma glucose in the conscious dog. *Diabetes* 50:367-375.
- Fowden, A.L. 1992. The role of insulin in fetal growth. *Early Human Dev.* 29: 177-181.
- Fowden, A.L. 1995. Endocrine regulation of fetal growth. *Reprod. Fertil. Dev.* 7:351-363.
- Fowden, A.L. 1997. Comparative aspects of fetal carbohydrate metabolism. *Equin. Vet. J.* 24 (Supl.):19-25.
- Fowden, A.L. et Hill, D.J. 2001. Intrauterine programming of the endocrine pancreas. *British Medical Bulletin* 60:123-142.
- Fowden, A.L. 2003. The insulin-like growth factors and feto-placental growth. *Placenta* 24:803-812.
- Freychet, P. 1990. Pancreatic hormones. Dans: *Hormones: from molecules to disease*. Éditeurs : E.-E. Baulieu. et P.A. Kelly. Hermann, Paris. pp. 491-501.
- Freinkel, N., Ogata, E. et Metzger, B.E. 1990. The offspring of the mother with diabetes. Dans: *Diabetes Mellitus: Theory and Practice*. Éditeurs: H. Rifkin et D. Porte. Elsevier, New York. pp. 651-659.
- Fukumoto, H., Kayano, T., Buse, J.B., Edwards, Y., Pilch, P.F., Bell, G.I. et Seino, S. 1989. Cloning and characterization of the major insulin-responsive glucose transporter expressed in human skeletal muscle and other insulin-responsive tissues. *J. Biol. Chem.* 264(14):7776-7779.
- Gaither, K., Quraishi, A.N. et Illsley, N. P. 1999. Diabetes Alters the Expression and Activity of the Human Placental GLUT1 Glucose Transporter. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84 (2):695-701.
- Garvey, W.T., Huecksteadt, T.P. et Birnbaum, M.J. 1989. Pretranslational suppression of an insulin-responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus. *Science* 245:60-63.
- Garvey, W.T. 1992. Glucose transport and NIDDM. *Diabetes Care* 15(3):396-417.
- Gerhart, K.A., Johnson, R.L., Menconi, J., Hoffman, R.E. et Lammertse, D.P. 1995. Utilization and effectiveness of methylprednisolone in a population-based sample of spinal cord injured persons. *Paraplegia* 33(6):316-321.

- Glazier, J.D., Harrington, B., Sibley, C.P. et Turner, M. 1999. Placental function in maternofetal exchange. *Dans Fetal medicine: Basic science and clinical practice*. Éditeurs: C.H. Rodek et M.J. Whittle. Churchill Livingstone, London. pp. 111-126.
- Gluckman, P. et Harding, J. 1992. The regulation of fetal growth. In *Human Growth: Basic and Clinical Aspects*. Éditeurs: M. Hernandez et J. Argente. Elsevier, Amsterdam. pp. 253-259.
- Gootwine, E. Placental hormones and fetal-placental development. 2004. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:551-566.
- Gould, G.W. et Holman, G.D. 1993. The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem. J.* 295:329-341.
- Gray, P.H., O'Callaghan, M.J., Harvey, J.M., Burke, C.J. et Payton, D.J. 1999. Placental pathology and neurodevelopment of the infant with intrauterine growth restriction. *Dev. Med. Child. Neurol.* 41(1):16-20.
- Greenwood, P.L. et Bell, A.W. 2003. Consequences of intra-uterine growth retardation for postnatal growth, metabolism and pathophysiology. *Reprod.* 61:195-206.
- Gude, N.M., Stevenson, J.L., Rogers, S., Best, J.D., Kalionis, B., Huisman, M.A., Erwich, J.J., Timmer, A. et King, R.G. 2003. GLUT12 expression in human placenta in first trimester and term. *Placenta* 24(5):566-570.
- Guillet-Deniau, I., Leturque, A. et Girard, J. 1994. Expression and cellular localization of glucose transporters (GLUT1, GLUT3, GLUT4) during differentiation of myogenic cells isolated from rat fetuses. *J. Cell. Sci.* 107:487-496.
- Hackett, G.A., Cohen-Overbeek, T. et Campbell, S. 1992. The effect of exercise on uteroplacental Doppler waveforms in normal and complicated pregnancies. *Obstet. Gynecol.* 79(6):919-923.
- Haggarty, P. 2002. Placental regulation of fatty acid delivery and its effect on fetal growth-A review. *Placenta* 23:28-38.
- Hahn, T., Hahn, D., Blaschitz, A., Korgun, E.T., Desoye, G. et Dohr, G. 2000. Hyperglycaemia-induced subcellular redistribution of GLUT1 glucose transporters in cultured human term placental trophoblast cells. *Diabetologia* 43: 173-180.
- Han W.K.M. 1999. Fetal growth and its regulation. *Dans Fetal Medicine*. Éditeurs: C.H. Rodek et M.J. Whittle. Churchill Livingstone, London. pp. 127-139.

- Handwerger, S. et Freemark, M. 2000. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 13:343-356.
- Hauguel-de Mouzon, S., Challier, J. C., Kacemi, A., Caüzac, M., Malek, A. et Girard, J. 1997. The GLUT3 glucose transporter isoform is differentially expressed within human placental cell types. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82(8):2689-2694.
- Havel, R.J. 1987. Lipid transport function of lipoproteins in blood plasma. *Am. J. Physiol.* 253:E1-E5.
- Head, J.R., Fujikawa, H. et Casey, M.L. 1999. Preferential expression of glucose transporter-3 in the cotyledonary vessels of the placental vasculature. *J. Soc. Gyn. Invest.* 6:153A.
- Hediger, M.A., Coady, M.J., Tyson, S.I. et Wright, E.M. 1987. Expression cloning and cDNA sequencing of the Na⁺/glucose co-transporter. *Nature* 330:379-381.
- Hediger, M.A., Turk, E. et Wright, E.M. 1989. Homology of the human intestinal Na⁺/glucose and E. Coli Na⁺/proline cotransporters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:5748-5752.
- Hernandez-Valencia, M., Zarate, A., Ochoa, R., Fonseca, M.E., Amato, D. et De Jesus Ortiz, M. 2001. Insulin-like growth factor I, epidermal growth factor and transforming growth factor beta expression and their association with intrauterine fetal growth retardation, such as development during human pregnancy. *Diabetes. Obes. Metab.* 3(6):457-462.
- Herrera, E., Lasuncion, M.A., Palacin, M., Zorzano, A. et Bonet, B. 1991. Intermediary metabolism in pregnancy. First theme of the Freinkel era. *Diabetes* 40(suppl. 2):83-88.
- Holmes, R., Porter, H., Newcomb, P., Holly, J.M. et Soothill, P. 1999. An immunohistochemical study of type I insulin-like growth factor receptors in the placentae of pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses. *Placenta* 20(4):325-330.
- Holt, J.A. 1989. Regulation of progesterone production in the rabbit corpus luteum. *Biol. Reprod.* 40:201-208.
- Houang, M., Morineau, G., Le Bouc, Y., Fiet, J. et Gourmelen, M. 1999. The cortisolcortisone shuttle in children born with intrauterine growth retardation. *Pediatr. Res.* 46(2):189-193.

- Ibberson, M., Uldry, M. et Thorens, B. 2000. GLUTX1, a novel mammalian glucose transporter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues. *J. Biol. Chem.* 275: 4607–4612.
- Illsley, N.P. 2000. Glucose transporters in the human placenta. *Placenta* 21(1):14-22.
- Izutsu, T., Kudo, T., Sato, T., Nishiya, I., Ohyashiki, K. et Nakagawara, K. 1999. Telomerase and proliferative activity in placenta from women with and without fetal growth restriction. *Obstet. Gynecol.* 93(1):124-129.
- James, D.E., Brown, R., Navarro, J. et Pilch, P.F. 1988. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein. *Nature* 333:183-185.
- James, D.E., Strube, M. et Mueckler, M. 1989. Molecular cloning and characterization of an insulin-regulatable glucose transporter. *Nature* 338(6210): 83-87.
- Jansson, T., Wennergren, M. et Illsley, N.P. 1993. Glucose transporter protein expression in human placenta throughout gestation and in intrauterine growth retardation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77(6): 1554-1562.
- Jansson, T., Cowley, E.A. et Illsley, N.P. 1995. Cellular localization of glucose transporter messenger RNA in human placenta. *Reprod. Fertil. Dev.* 7(6):1425-1430.
- Jansson, T., Scholtbach, V. et Powell, T.L. 1998. Placental transport of leucine and lysine is reduced in intrauterine growth restriction. *Pediatr. Res.* 44:532–537.
- Jansson, T., Ekstrand, Y., Wennergren, M. et Powell, T.L. 2001. Placental glucose transport in gestational diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184(2):111-116.
- Jansson, T., Ylven, K., Wennergren, M. et Powell, T.L. 2002. Glucose transport and system A activity in syncytiotrophoblast microvillous and basal plasma membranes in intrauterine growth restriction. *Placenta* 23(5):392-399.
- Jansson, T. et Powell, T.L. 2006. Human Placental Transport in Altered Fetal Growth: Does the Placenta Function as a Nutrient Sensor? - A Review. *Placenta* 27 (20):1-7.
- Jiang, G. et Zhang, B.B. 2003. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284:671–678.
- Jones, C.T. et Rolph, T.P. 1985. Metabolism during fetal life: a functional assessment of metabolic development. *Physiol. Rev.* 65:357-430.

Joost, H.G. et Thorens, B. 2001. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol. Membr. Biol.* 18:247-256.

Kahn, B.B., Horton, E.S. et Cushman, S.W. 1987. Mechanism for enhanced glucose transport response to insulin in adipose cells from chronically hyperinsulinemic rats. Increased translocation of glucose transporters from an enlarged intracellular pool. *J. Clin. Invest.* 79:853-858.

Kanai, Y., Lee, W.-S., You, G., Brown, D. et Hediger, M.A. 1994. The human kidney low affinity Na^+ /glucose cotransporter SGLT2: Delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. *J. Clin. Invest.* 93:397-404.

Kanaka-Gantenbein, C., Mastorakos, G. et Chrousos, G. P. 2003. Endocrine-Related Causes and Consequences of Intrauterine Growth Retardation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 997:150-157.

Kayano, T., Fukumoto, H., Eddy, R.L., Fan, Y.S., Byers, M.G., Shows, T.B. et Bell, G.I. 1988. Evidence for a family of human glucose transporter-like proteins. Sequence and gene localization of a protein expressed in fetal skeletal muscle and other tissues. *J. Biol. Chem.* 263(30):15245-15248.

Kayano, T., Burant, C.F., Fukumoto, H., Gould, G.W., Fan, Y.S., Eddy, R.L., Byers, M.G., Shows, T.B., Seino, S. et Bell, G.I. 1990. Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6). *J. Biol. Chem.* 265(22):13276-13282.

King, H. 1998. Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of child bearing age. *Diabetes Care* 21(Suppl. 2):B9-B13.

Kitagawa, T., Masumi, A. et Akamatsu, Y. 1991. Transforming growth factor-beta 1 stimulates glucose uptake and the expression of glucose transporter mRNA in quiescent Swiss mouse 3T3 cells. *J. Biol. Chem.* 266:18066-18071.

Kitano, T., Iizasa, H., Terasaki, T., Asashima, T., Matsunaga, N., Utoguchi, N., Watanabe, Y., Obinata, M., Ueda, M. et Nakashima, E. 2002. Polarized glucose transporters and mRNA expression properties in newly developed rat syncytiotrophoblast cell lines, TR-TBTs. *J. Cell. Physiol.* 193(2):208-218.

Klip, A., Ramlal, T., Bilan, P.J., Marette, A., Liu, Z. et Mitsumoto, Y. 1993. What signals are involved in the stimulation of glucose transport by insulin in muscle cells? *Cell. Signal.* 5:519-529.

- Kovanen, P.T., Brown, M.S., Basu, S.K., Bilheimer, D.W. et Goldstein, J.L. 1981. Saturation and suppression of hepatic lipoprotein receptors: a mechanism for the hypercholesterolemia of cholesterol-fed rabbits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78(3):1396-1400.
- Knipp, G.T., Audus, K.L. et Soares, M.J. 1999. Nutrient transport across the placenta. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 38(1):41-58.
- Lacroix, M.C., Guibourdenche, J., Frendo, J.L., Pidoux, G. et Evain-Brion, D. 2003. Placental growth hormones. *Endocrine*. 19:73-79.
- Langdown, M.L. et Sugden, M.C. 2001. Enhanced placental GLUT1 and GLUT3 expression in dexamethasone-induced fetal growth retardation. *Mol. Cell. Endocrinol.* 20:185(1-2):109-117.
- Langford, K.S., Nicolaides, K.H., Jones, J., Abbas, A., McGregor, A.M. et Miell, J.P. 1995. Serum insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) levels and IGFBP-3 protease activity in normal, abnormal, and multiple human pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80:21-27.
- Lassarre, C., Hardouin, S., Daffos, F., Forestier, F., Frankenne, F. et Binoux, M. 1991. Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationships with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. *Pediatr. Res.* 29:219-225.
- Lea, R.G., Riley, S.C., Antipatis, C., Hannah, L., Ashworth, C.J., Clark, D.A. et Critchley, H.O. 1999. Cytokines and the regulation of apoptosis in reproductive tissues: a review. *Am. J. Reprod. Immunol.* 42(2):100-109.
- Lee, W.S., Kanai, Y., Wells, R.G. et Hediger, M.A. 1994. The high affinity Na⁺glucose cotransporter. *J. Biol. Chem.* 269:12032-12039.
- Leger, J., Noel, M., Limal, J.M. et Czernichow, P. 1996. Growth factors and intrauterine growth retardation. II. Serum growth hormone, insulin-like growth factor (IGF) I, and IGF-binding protein 3 levels in children with intrauterine growth retardation compared with normal control subjects: prospective study from birth to two years of age. *Pediatr. Res.* 40:101-107.
- Lembo, G., Capaldo, B., Rendina, V., Iaccarino, G., Napoli, R., Guida, R., Trimarco, B. et Saccà, L. 1994. Acute noradrenergic activation induces insulin resistance in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 266: E242-E247.
- Leperco, J. et Mahieu-Caputo, D. 1998. Diagnosis and management of intrauterine growth retardation. *Horm. Res.* 49(suppl. 2):14-19.

- Limesand, S.W., Regnault, T.R. et Hay, W.W.Jr. 2004. Characterization of glucose transporter 8 (GLUT8) in the ovine placenta of normal and growth restricted fetuses. *Placenta* 25(1):70-77.
- Lin, J., Toft, D.J., Bengtson, N.W. et Linzer, D.I. 2000. Placental prolactins and the physiology of pregnancy. *Recent Prog. Horm. Res.* 55:37-51.
- Le Marchand-Brustel, Y., Olichon-Berthe, C., Gremeaux, T., Tanti, J.F., Rochet, N. et Van Obberghen, E. 1990. Glucose transporter in insulin sensitive tissues of lean and obese mice. Effect of the thermogenic agent BRL 26830A. *Endocrinology* 127(6):2687-2695.
- Lytton, F.D.C. et Poyser, N.L. 1982. Concentrations of PGF-2 and PGE-2 in the uterine venous blood of rabbits during pseudopregnancy and pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 64:421-429.
- Macheda, M.L., Kelly, D.J., Best, J.D. et Rogers, S. 2002. Expression during rat fetal development of GLUT12--a member of the class III hexose transporter family. *Anat. Embryol. (Berl)*. 205(5-6):441-452.
- Macheda, M.L., Williams, E.D., Best, J.D, Wlodek, M.E. et Rogers, S. 2003. Expression and localisation of GLUT1 and GLUT12 glucose transporters in the pregnant and lactating rat mammary gland. *Cell. Tissue. Res.* 311(1):91-97.
- Mackenzie, B., Heiermann, M.P., Loo, D.D.F., Lever, J.E. et Wright, E.M. 1994. SAATI is a low affinity Na⁺glucose cotransporter and not an amino acid transporter. *J. Biol. Chem.* 269:22488-22491.
- Maher, F., Clark, S. et Harrison, L.C. 1989. Chronic stimulation of glucose transporter gene expression in L6 myocytes mediated via the insulin-like growth factor-1 receptor. *Mol. Endocrinol.* 3:2128-2135.
- Malassiné A., Tarrade A., Guibourdenche J., Rochette-Égly C., Évain-Brion D. 2000. Le placenta. *Méd. Sci.* 16: 329-335.
- Malide, D. et Cushman, S.W. 1997. Morphological effects of wortmannin on the endosomal system and GLUT4-containing compartments in rat adipose cells. *J. Cell. Sci.* 110: 2795-2806.
- Marette, A., Richardson, J.M., Ramlal, T., Balon, T.W., Vranic, M., Pessin, J.E. et Klip, A. 1992. Abundance, localization, and insulin-induced translocation of glucose transporters in red and white muscle. *Am. J. Physiol.* 263:443-452.

- Martin, U., Davies, C., Hayavi, S., Hartland, A. et Dunne, F. 1999. Is normal pregnancy atherogenic? *Clin. Sci. (Lond.)* 96(4):421-425.
- Martinez-Botas, J., Suarez, Y., Ferruelo, A.J., Gomez-Coronado, D. et Lasuncion, M.A. 1999. Cholesterol starvation decreases p34(cdc2) kinase activity and arrests the cell cycle at G2. *FASEB J.* 13(11):1359-1370.
- Masuzaki, H., Ogawa, Y., Sagawa, N., Hosoda, K., Matsumoto, T., Mise, H., Nishimura, H., Yoshimasa, Y., Tanaka, I., Mori, T. et Nakao, K. 1997. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat. Med.* 1029-1033.
- Mauch, D.H., Nagler, K., Schumacher, S., Goritz, C., Muller, E.C., Otto, A. et Pfrieder, F.W. 2001. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* 9;294(5545):1354-1357.
- McConihay, J.A., Horn, P.S. et Woollett, L.A. 2001. Effect of maternal hypercholesterolemia on fetal sterol metabolism in the Golden Syrian hamster. *J. Lipid. Res.* 42(7):1111-1119.
- McGowan, K.M., Long, S.D. et Pekala, P.H. 1995. Glucose transporter gene expression: regulation of transcription and mRNA stability. *Pharmacol. Ther.* 66:465-505.
- McIntyre, H.D., Serek, R., Crane, D.I., Veveris-Lowe, T., Parry, A., Johnson, S., Leung, K.C., Ho, K.K., Bougoussa, M., Hennen, G., Igout, A., Chan, F.Y., Cowley, D., Cotterill, A. et Barnard, R. 2000. Placental growth hormone (GH), GH-binding protein, and insulin-like growth factor axis in normal, growth-retarded, and diabetic pregnancies: correlations with fetal growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85(3):1143-1150.
- McVie-Wylie, A.J., Lamson, D.R. et Chen, Y.T. 2001. Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10 (GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptibility. *Genomics* 72(1):113-117.
- Myllynen, P., Pasanen, M. et Pelkonen, O. 2005. Human placenta: a human organ for developmental toxicology research and biomonitoring. *Placenta* 26(5):361-371.
- Mirlesse, V., Franken, F., Alsat, E., Poncelet, M., Hennen, G. et Evain-Brion, D. 1993. Placental growth hormone levels in normal pregnancy and in pregnancies with intrauterine growth retardation. *Pediatr. Res.* 34(4):439-442.
- Mitropoulos, K.A., Venkatesan, S., Reeves, B.E.A. et Balasubramaniam, S. 1981. Modulation of 3-hydroxy-3methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl-CoA: cholesterol acyltransferase by the transfer of nonesterified cholesterol to rat liver microsomal vesicles. *Biochem. J.* 194:265-271.

- Monk, D. et Moore, G.E. 2004. Intrauterine growth restriction-genetic causes and consequences. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 9:371-378.
- Montoudis, A., Simoneau, L., Brissette, L., Forest, J.C., Savard, R. et Lafond, J. 1999. Impact of a cholesterol enriched diet on maternal and fetal plasma lipids and fetal deposition in pregnant rabbits. *Life Sci.* 64:2439–2450.
- Montoudis, A., Boileau, S., Simoneau, L. et Lafond, J. 2003. Impact of an enriched-cholesterol diet on enzymatic cholesterol metabolism during rabbit gestation. *Life Sci.* 73 (11):1463–1477.
- Montoudis, A., Simoneau, L. et Lafond, J. 2004. Influence of a maternal cholesterol-enriched diet on [1-14C]-linoleic acid and L-[4, 5-3H]-leucine entry in plasma of rabbit offspring. *Life Sci.* 74(14):1751-1762.
- Morris, F.H.Jr., Boyd, R.D.H. 1988. Placental transport. *Dans The physiology of reproduction.* Éditeurs: E.Knobel, J.D.Neill, L.L. Ewing, G.S. Greenwald, C.L. Markert et D.W. Pfaff. Raven Press, New York. pp.2048-2083.
- Muecler, M. 1994. Facilitative glucose transporters. *Eur. J. Biochem.* 219:713-725.
- Munilla, M.A. et Herrera, E. 1997. A cholesterol-rich diet causes a greater hypercholesterolemic response in pregnant than in nonpregnant rats and does not modify fetal lipoprotein profile. *J. Nutr.* 127(11):2239-2245.
- Murthi, P., Kee, M.W., Gude, N.M., Brennecke, S.P. et Kalionis, B. 2005. Fetal growth restriction is associated with increased apoptosis in the chorionic trophoblast cells of human fetal membranes. *Placenta* 26(4):329-338.
- Napoli, C., D'Armiento, F.P., Mancini, F.P., Postiglione, A., Witztum, J.L., Palumbo, G. et Palinski, W. 1997. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.* 100(11):2680-2690.
- Napoli, C., Witztum, J.L., Calara, F., de Nigris, F. et Palinski, W. 2000. Maternal hypercholesterolemia enhances atherogenesis in normocholesterolemic rabbits, which is inhibited by antioxidant or lipid-lowering intervention during pregnancy: an experimental model of atherogenic mechanisms in human fetuses. *Circ. Res.* 87(10):946-952.
- Nayak, N.R. et Giudice, L.C. 2003. Comparative biology of the IGF system in endometrium, decidua and placenta, and clinical implications for foetal growth and implantation disorders. *Placenta* 24:281-296.

- Nessman-Emanuelli, C. 1983. Développement et structure du placenta. *Arch. Anat. Cytol. Phatol.* 31:70-72.
- Nieto-Diaz, A., Villar, J., Matorras-Weinig, R. et Valenzuela-Ruiz, P. 1996. Intrauterine growth retardation at term: association between anthropometric and endocrine parameters. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 75:127-131.
- Norberg, S., Powell, T.L. et Jansson, T. 1998. Intrauterine growth restriction is associated with a reduced activity of placental taurine transporters. *Pediatr. Res.* 44(2):233-238.
- Ogura, K., Sakata, M., Yamaguchi, M., Kurachi, H. et Murata, Y. 1999. High concentration of glucose decreases glucose transporter-1 expression in mouse placenta in vitro and in vivo. *J. Endocrinol.* 160(3):443-452.
- Ohta, T., Isselbacher, K.T. et Rhoads, D.B. 1990. Regulation of glucose transporters in LLC-PK1 cells: effects of D-glucose and monosaccharides. *Mol. Cell. Biol.* 10:6491-6499.
- Olson, A.L. et Pessin, J.E. 1996. Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Ann. Rev. Nutr.* 16:235-256.
- Palinski, W., D'Armiento, F.P., Witztum, J.L., de Nigris, F., Casanada, F., Condorelli, M., Silvestre, M. et Napoli, C. 2001. Maternal hypercholesterolemia and treatment during pregnancy influence the long-term progression of atherosclerosis in offspring of rabbits. *Circ. Res.* 89(11):991-996.
- Pardi, G., Marconi, A.M. et Cetin, I. 2002. Placental-fetal interrelationship in IUGR fetuses-A review. *Placenta* 23:136-41.
- Pasqualini, J.R. 2005. Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 97(5):401-415.
- Pedersen, J.F. et Molsted-Pedersen, L. 1979. Early growth retardation in diabetic pregnancy. *Br. Med. J.* 1(6155):18-19.
- Peleg, D., Kennedy, C.M. et Hunter, S.K. 1998. Intrauterine growth restriction: identification and management. *Am. Fam. Physician.* 58:453-460.
- Pepe, G.J. et Albrecht, E.D. 1994. Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. *Endocrine Rev.* 16:608-648.

- Phay, J. E., Hussein, H. B. et Moley, J. F. 2000. Cloning and expression analysis of a novel member of the facilitative glucose transporter family, *SLC2A9* (GLUT9). *Genomics* 66: 217–220.
- Pickard, M.R., Sinha, A.K., Ogilvie, L.M., Leonard, A.J., Edwards, P.R. et Ekins, R.P. 1999. Maternal hypothyroxinemia influences glucose transporter expression in fetal brain and placenta. *J. Endocrinol.* 163(3):385-394.
- Pilkis, S.J., et Granner, D.K. 1992. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu. Rev. Physiol.* 54:885-909.
- Popek, E.J. 1999. Normal anatomy and histology. *Dans Pathology of the placenta.* Éditeurs: S.H. Lewis et E. Perrin. Churchill Livingstone, Philadelphia. pp. 49-88.
- Porter, D.G., Heap, R.B. et Flint, A.P. 1982. Endocrinology of the placenta and the evolution of viviparity. *J. Reprod. Fertil.* 31:113-138.
- Powell, T.L., Jansson, T., Illsley, N.P., Wennergren, M., Korotkova, M. et Strandvik, B. 1999. Composition and permeability of syncytiotrophoblast plasma membranes in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *Biochim. Biophys. Acta.* 20;1420(1-2):86-94.
- Price, W.A., Stiles, A.D., Moats-Staats, B.M. et D'Ercole, A.J. 1992. Gene expression of insulin-like growth factors (IGFs), the type 1 IGF receptor, and IGF-binding proteins in dexamethasone-induced fetal growth retardation. *Endocrinology* 130:1424–1432.
- Quraishi, A.N. et Illsley, N.P. 1999. Transport of sugars across human placental membranes measured by light scattering. *Placenta* 20(2-3):167-174.
- Raju, B. et Cryer, P.E. 2005. Maintenance of the postabsorptive plasma glucose concentration: insulin or insulin plus glucagon? *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289(2):181-186.
- Rappaport, R. 1993. Fetal Growth. *Dans Pediatric Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Aspects,* Éditeurs: J. Bertrand, R. Rappaport, et P.C. Sizonenko. Williams and Wilkins. Baltimore. pp. 453-464.
- Rawn, J.D. 1990. *Traité de Biochimie.* De Boeck-Weasmael. Brussel.
- Reagan, L.P., Gorovits, N., Hoskin, E.K., Alves, S.E., Katz, E.B., Grillo, C.A., Piroli, G.G., McEwen, B.S. et Charron, M.J. 2001. Localization and regulation of GLUTx1 glucose transporter in the hippocampus of streptozotocin diabetic rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98(5):2820-2825.

- Rees, W.D., Hay, S.M., Fontanier-Razzaq, N.C., Antipatis, C. et Harries, D.N. 1999. Expression of the growth arrest genes (GAS and GADD) changes during organogenesis in the rat fetus. *J. Nutr.* 129(8):1532-1536.
- Realí, A., Ximenes, A., Cuzzolin, L. et Fanos, V. 2005. Antibiotic therapy in pregnancy and lactation. *J. Chemother.* 17(2):123-130.
- Rogers, S., Macheda, M.L., Docherty, S.E., Carty, M.D., Henderson, M.A., Soeller, W.C., Gibbs, E.M., James, D.E. et Best, J.D. 2002. Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282(3):E733-E738.
- Rollins, B.J., Morrison, E.D., Usher, P. et Flier, J.S. 1988. Platelet-derived growth factor regulates glucose transporter expression. *J. Biol. Chem.* 263:16523-16526.
- Sagawa, N., Yura, S., Itoh, H., Kakui, K., Takemura, M., Nuamah, M.A., Ogawa, Y., Masuzaki, H., Nakao, K. et Fujii, S. 2002. Possible role of placental leptin in pregnancy: a review. *Endocrine* 19:65-71.
- Salvesen, D.R., Freeman, J., Brudenell, J.M. et Nicolaidis, K.H. 1993. Prediction of fetal acidemia in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus by biophysical profile scoring and fetal heart rate monitoring. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 100:227-233.
- Scheepers, A., Joost, H.-G. et Schurmann, A. 2004. The Glucose Transporter Families SGLT and GLUT: Molecular Basis of Normal and Aberrant Function. *J. Parent. Enteral Nutrition* 28:365-372.
- Schneider, H. 1996. Ontogenic changes in the nutritive function of the placenta. *Placenta* 17: 15-26.
- Schneider, H., Challie, J.-C. et Dancis, J. 1981. Transfer and metabolism of glucose and lactate in the human placenta studied by a perfusion system in vitro. *Dans Placental Transfer: Methods and Interpretation.* Éditeurs: M. Young, R.D.H. Boyd, L.D. Longo, G. Telegdy. W.B. Saunders Company Ltd., London. pp. 129-137.
- Schroeder, R.E., Doria-Medina, C.L., Das, U.G., Sivitz, W.I. et Devaskar, S.U. 1997. Effect of maternal diabetes upon fetal rat myocardial and skeletal muscle glucose transporters. *Pediatr. Res.* 41(1):11-19.
- Schwartz, R., Gruppuso, P.A., Petzold, K., Brambilla, D., Hiilesmaa, V. et Teramo, K.A. 1994. Hyperinsulinemia and macrosomia in the fetus of the diabetic mother. *Diabetes Care* 17:640-648.
- Schwartz, R. et Teramo, K.A. 2000. Effects of diabetic pregnancy on the fetus and newborn. *Semin. Perinatol.* 24(2):120-135.

Shams, M., Kilby, M.D., Somerset, D.A., Howie, A.J., Gupta, A., Wood, P.J., Afnan, M. et Stewart, P.M. 1998. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human pregnancy and reduced expression in intrauterine growth restriction. *Hum. Reprod.* 13(4):799-804.

Sheppard, B.L. et Bonnar, J. 1999. Uteroplacental hemostasis in intrauterine fetal growth retardation. *Semin. Thromb. Hemost.* 25(5):443-446.

Shu, F., Sugimura, M., Kanayama, N., Kobayashi, H., Kobayashi, T. et Terao, T. 2000. Immunohistochemical study of annexin V expression in placenta of preeclampsia. *Gynecol. Obstet. Invest.* 49(1):17-23.

Sibley, C. P. et Boyd, R.D.H. 1992. Mechanisms of transfer across the human placenta. *Dans Fetal and Neonatal Physiology*. Éditeurs: R.A. Polin et W.W. Fox. Saunders, Philadelphia. pp. 62-74.

Sibley, C.P., Glazier, J. et D'Souza, S. 1997. Placental transporter activity and expression in relation to fetal growth. *Exp. Physiol.* 82:389-402.

Sibley, C.P., Glazier, J.D., Greenwood, S.L., Lacey, H., Mynett, K., Speake, P., Jansson, T., Johansson, M. et Powell, T.L. 2002. Regulation of placental transfer: the Na(+)/H(+) exchanger. *Placenta* 23(suppl A):S39-46.

Sinha, M.K., Raineri-Maldonado, C., Buchanan, C., Pories, W.J., Carter-Su, C., Pilch, P.F. et Caro, J.F. 1991. Adipose tissue glucose transporters in NIDDM. Decreased levels of muscle/fat isoform. *Diabetes* 40(4):472-477.

Sloboda, D.M., Newnham, J.P. et Challis, J.R.G. 2000. Effects of repeated maternal betamethasone administration on growth and hypothalamic-pituitary-adrenal function of the ovine fetus at term. *J. Endocrinol.* 165:79-91.

Slot, J.W., Geuze H.J., Gigengack S., Lienhard G.E. et James D.E. 1991. Immunolocalization of the insulin regulatable glucose transporter in brown adipose tissue of the rat. *J. Cell. Biol.* 113:123-135.

Smith, V., Devane, D., Higgins, S. et Begley, C. 2005. Pre-term birth: the risk factors. *Pract. Midwife.* 8(9):12-14.

Smith, S.C., Price, E., Hewitt, M.J., Symonds, E.M. et Baker, P.N. 1998. Cellular proliferation in the placenta in normal human pregnancy and pregnancy complicated by intrauterine growth restriction. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 5(6):317-323.

Somerset, D.A., Li, X.F., Afford, S., Strain, A.J., Ahmed, A. et Sangha, R.K. 1998. Ontogeny of hepatocyte growth factor (HGF) and its receptor (c-met) in human placenta: reduced HGF expression in intrauterine growth restriction. *Am. J. Pathol.* 153(4):1139-1147.

Steiner, D.F. et Tager, H.S. 1979. Biosynthesis of insulin and glucagon. *Dans Endocrinology*. Éditeur: L.J. DeGroot. Grune and Stratton. New-York, pp. 921-923.

Suarez, Y., Fernandez, C., Ledo, B., Ferruelo, A.J., Martin, M., Vega, M.A., Gomez-Coronado, D. et Lasuncion, M.A. 2002. Differential effects of ergosterol and cholesterol on Cdk1 activation and SRE-driven transcription. *Eur. J. Biochem.* 269(6):1761-1771.

Susa, J.B., Widness, J.A., Hintz, R., Liu, F., Sehgal, P. et Schwartz, R. 1984. Somatomedins and insulin in diabetic pregnancies: effect of fetal macrosomia in the human and rhesus monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58:1099-1105.

Suzuki, K. et Kono, T. 1980. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 2542-2545.

Tai, P.K., Liao, J.F., Chen, E.H., Dietz, J., Schwartz, J., et Carter-Su, C. 1990. Differential regulation of two glucose transporters by chronic growth hormone treatment of cultured 3T3-F442A adipose cells. *J. Biol. Chem.* 265:21828-21834.

Takata, K., Kasahara, M., Oka, Y. et Hirano, H. 1993. Mammalian sugar transporters: Their localization and link to cellular functions. *Acta Histochem. Cytochem.* 26:165-178.

Takata, K. et Hirano, H. 1997. Mechanism of glucose transport across the human and rat placental barrier: a review. *Microsc. Res. Tech.* 38(1-2):145-152.

Tarpey, P.S., Shirazi-Beechey, S.P. et Beechey, R.B. 1994. Molecular characterization of the Na⁺/glucose CO-transporter from the sheep parotid gland acinar cell. *Biochem. Soc. Trans.* 22:264.

Terpstra, A.H. et Beynen, A.C. 1984. Density profile and cholesterol concentration of serum lipoproteins in experimental animals and human subjects on hypercholesterolaemic diets. *Comp. Biochem. Physiol.* 77(3):523-528.

Thorens, B., Wu, Y.J., Leahy, J.L. et Weir, G.C. 1992. The loss of GLUT2 expression by glucose-unresponsive beta cells of db/db mice is reversible and is induced by the diabetic environment. *J. Clin. Invest.* 90(1):77-85.

- Tordjman, K.M., Leingang, K.A., James, D.E., et Mueckler, M.M. 1989. Differential regulation of two distinct glucose transporter species expressed in 3T3-L1 adipocytes: effect of chronic insulin and tolbutamide treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:7761-7765.
- Turk, E. et Wright, E.M. 1997. Membrane topological motifs in the SGLT cotransporter family. *J. Membr. Biol.* 159:1-20.
- Van Assche, F.A., Aerts, L. et De Prins, F.A. 1978. A morphological study of the endocrine pancreas in human pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 85:818-820.
- Vardhana, P.A. et Illsley N.P. 2002. Transepithelial glucose transport and metabolism in BeWo choriocarcinoma cells. *Placenta* 23(8-9):653-660.
- Verhaeghe, J., Loos, R., Vlietinck, R., Herck, E.V., van Bree, R. et Schutter, A.M. 1996. C-peptide, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor binding protein-1 in cord serum of twins: genetic versus environmental regulation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 175:1180-1188.
- Wachters-Hagedoorn, R.E., Priebe, M.G. et Vonk, R.J. 2004. Nutrition and health-carbohydrates, the risks to health from the postprandial glycaemic response and the possibilities for its manipulation. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 148(33):1626-1630.
- Waddell, I.D., Zomerschoe, A.G., Voice, M.W. et Burchell, A. 1992 Cloning and expression of a hepatic microsomal glucose transport protein. Comparison with liver plasma-membrane glucose-transport protein GLUT2. *Biochem. J.* 286 (Pt 1):173-177.
- Wadsack, C., Hrzenjak, A., Hammer, A., Hirschmugl, B., Levak-Frank, S., Desoye, G., Sattler, W. et Malle, E. 2003. Trophoblast-like human choriocarcinoma cells serve as a suitable in vitro model for selective cholesteryl ester uptake from high density lipoproteins. *Eur. J. Biochem.* 270(3):451-462.
- Walker, P.S., Donovan, J.A., Van Ness, B.G., Fellows, R.E. et Pessin, J.E. 1988. Glucosedependent regulation of glucose transport activity, protein, and mRNA in primary cultures of rat brain glial cells. *J. Biol. Chem.* 263:15594-15601.
- Weinstein, S.P., Watts, J., Graves, P.N. et Haber, R.S. 1990. Stimulation of glucose transport by thyroid hormone in ARL 15 cells: increased abundance of glucose transporter protein and messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 126:1421-1429.
- Wells, R.G., Pajor, A.M., Kanai, Y., Wright, E.M. et Hediger, M.A. 1992. Cloning of a human cDNA with similarity to the sodium-glucose cotransporter. *Am. J. Physiol.* 263:F459-F465.

Wertheimer, E., Sasson, S., Cerasi E., et Ben-Neriah, Y. 1991. The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 belongs to the glucose- regulated protein family of stress inducible proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2525-2529.

Wilson, D.M., Bennett, A., Adamson, G.D., Nagashima, R.J., Liu, F., DeNatale, M.L., Hintz, R.L. et Rosenfeld, R.G. 1982. Somatomedins in pregnancy: a crosssectional study of insulin-like growth factors I and II and somatomedin peptide content in normal human pregnancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55:858-861.

Wollmann, H.A. 1998. Intrauterine growth restriction: definition and etiology. *Horm. Res.* 49(suppl. 2):1-6.

Wood, I.S., Trayhurn, P. 2003. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br. J. Nutr.* 89(1):3-9.

Xing, A.Y., Challier, J.C., Lepercq, J., Cauzac, M., Charron, M.J., Girard, J. et Hauguel-de Mouzon, S.J. 1998. Unexpected expression of glucose transporter 4 in villous stromal cells of human placenta. *Clin. Endocrinol. Metab.* 83(11):4097-4101.

Yllera, M., Alexandre-Pires, G.M. et Cifuentes, G.M. 2003. Placenta: Regularization of Neovascularization. *Microvascularization Pattern of the Rabbit Term Placenta. Microsc. Res. Tech.* 60:38-45.

Zierath, J.R., He, L., Guma, A., Odegaard-Wahlstrom, E., Klip, A. et Wallberg-Henriksson, H. 1996. Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 39:1180-1189.

Zorzano, A., Wilkinson, W., Kotliar, N., Thoidis, G., Wadzinski, B.E., Ruoho, A.E. et Pilch, P.F. 1989. Insulin-regulated glucose uptake in rat adipocytes is mediated by two transporter isoforms present in at least two vesicle populations. *J. Biol. Chem.* 264:12358-12363.

Zorzano, A., Sevilla, L., Camps, M., Becker, C., Meyer, J., Kammermeier, H., Munoz, P., Guma, A., Testar, X., Palacin, M., Blasi, J. et Fischer, Y. 1997. Regulation of glucose transport, and glucose transporters expression and trafficking in the heart: studies in cardiac myocytes. *Am. J. Cardiol.* 80:65-76.